Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. F. W. Schmahl

Berylliumgehalt in mit Formalin konserviertem menschlichen Lungen- und Lebergewebe aus den Jahren 1933–1959 und 1982–1985

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Hans-Peter Martin Daxer
aus Freudenstadt
1987

UNIV. LIBRARY

Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. F. W. Schmahl

Berylliumgehalt in mit Formalin konserviertem menschlichen Lungen- und Lebergewebe aus den Jahren 1933–1959 und 1982–1985

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Hans-Peter Martin Daxer
aus Freudenstadt
1987

Dekan: Prof. Dr. med. H.-J. Gerth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Weichardt

2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. rer. nat. F. Schweinsberg

Herrn Prof. Dr. Zorn, an dessen Forschungsstelle in Stuttgart die Untersuchung durchgeführt wurde, danke ich für die Überlassung des Themas und seine vielfältige Unterstützung während der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Oehler, Leiter des Wasserlabors der Technischen Werke der Stadt Stuttgart, danke ich für die Zurverfügungstellung des AAS-Gerätes.

Bei Herrn Pflanzer vom Max-Planck-Institut für Pulvermetallurgie in Stuttgart-Büsnau (Leiter: Prof. Dr. Petzow) sowie bei Frl. Henseler bedanke ich mich für die Durchführung von Referenzanalysen.

Für die Überlassung der Organproben danke ich Herrn Prof. Dr. Bohle vom Pathologischen Institut der Universität Tübingen und Frau Prof. Dr. Krauss vom Pathologischen Institut des Katharinenhospitals in Stuttgart. Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. Egner und bei Herrn Stängle.

Herrn Dr. Eisenmann, Leiter des Gaslabors der Technischen Werke der Stadt Stuttgart, sowie Herrn Schatenberg und Herrn Anderl danke ich für ihre Hilfe.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Zur Bedeutung des Berylliums in Technik und Medizin	
2.1	Eigenschaften und technische Verwendung	2
2.2	Arbeitsmedizinische Gesichtspunkte	
2.2.1	Akute und chronische Berylliumintoxikation	3
2.2.2	Frage einer krebserzeugenden Wirkung	6
2.2.3	Grenzwerte für die berufliche Berylliumexposition	8
2.3	Außerberufliche Berylliumexposition	11
3.	Die Relation zwischen der Berylliumbelastung der Umwelt und dem Auftreten des Boeckschen Sarkoids	14
3.1	Berylliumgehalt menschlichen Lungengewebes als Hinweis auf eine Berylliumexposition	15
4.	Untersuchungsmaterial	
4.1	Gewebeproben aus den Jahren 1933 - 1959	16
4.2	Gewebeproben aus den Jahren 1982 - 1985	17
5.	Methodik	
5.1	Aufbereitung der Gewebeproben	18
5.2	Bestimmung des Berylliumgehalts mittels flammenloser Atom-Absorptions-Spektrometrie	18
5.3	Auswertung der Meßergebnisse	20
6.	Ergebnisse	22
7.	Diskussion	
7.1	Frage eines Zusammenhangs zwischen dem Berylliumgehalt der Lunge und dem Todesjahr	28
7.2	Nachweis einer erhöhten Berylliumexposition aufgrund von Lungengewebskonzentrationen	30

		Seite
7.3	Die Relation zwischen dem Berylliumgehalt der Lunge und Todesalter bzw. Erkrankung	31
7.4	Zusammenhang zwischen der Berylliumkonzentration im Lungengewebe und der pulmonalen Manifestation der Sarkoidose	32
7.5	Frage einer Bedeutung des Berylliums als Kanzerogen beim Menschen	34
7.6	Prüfung von Kontaminationsmöglichkeiten bei den konservierten Gewebeproben	36
7.7	Berylliumgehalt des Formalins	37
8.	Ergebnisse aus anderen Untersuchungen	
8.1	Lebens- und Genußmittel	40
8.2	Blut und Urin	41
8.3	Lungengewebe	41
9.	Präzision, Nachweisgrenze und Richtigkeit analytischer Methoden der Berylliumbestimmung	44
10.	Grundlagen der Atom-Absorptions-Spektroskopie	
10.1	Aufbau eines Atom-Absorptions-Spektrophotometers	45
10.2	Spezifität und Selektivität der Atom-Absorptions-Spektroskopie	48
10.3	Meßprinzip der AAS	50
10.4	Verschiedene Möglichkeiten der Atomisierung	
10.4.1	Atomisierung in der Flamme	52
10.4.2	Flammenlose Atomisierung im Graphitrohr	55

		Seite
11.	Grundlagen für die Durchführung der quantitativen Analyse von Beryllium in menschlichem Gewebe	
11.1	Kontaminationsprobleme in der Spurenanalyse	60
11.1.1	Gefäßmaterial	60
11.1.2	Vorbehandlung der Gefäße	61
11.1.3	Herstellung der Beryllium-Standardlösungen	64
11.1.4	Aufbewahrungsbedingungen der Gewebeproben	65
11.1.5	Blindwertkontrolle	65
11.2	Organisches Untersuchungsmaterial	66
11.2.1	Einwiegen der Probe	67
11.2.2	Aufbereitung	68
11.2.3	Bestimmung des aliquoten Teils	70
11.2.4	Additionsmethode	70
11.3	Pipettierung	73
11.3.1	Kontaktfläche zwischen Probe und Graphitrohr	74
11.3.2	Lokalisation der Probe im Graphitrohr	75
11.4	Einfluß des Graphitrohrs auf die Messung	75
11.4.1	Vorbehandlung des Graphitrohrs mit Zirkon	76
11.5	Programmierbare Steuerung der Graphitrohrtemperatur	78
11.5.1	Trocknung (Programmstufe 1 und 2)	79
11.5.2	Thermische Zersetzung (Programmstufe 3)	81
11.5.3	Atomisierung und Ausheizen (Programmstufe 4)	82
11.5.4	Zusammenfassung des Temperaturprogramms	86
11.6	Messung	86
11.7	Geräte	88
11.8	Auswertung der Meßergebnisse	88
11.9	Statistische Betrachtung	
11.9.1	Präzision	90
11.9.2	Richtigkeit	92
12.	Zusammenfassung	93
13.	Literaturverzeichnis	96

1. Einleitung

In den letzten Jahrzehnten fand Beryllium in Technik und Forschung zunehmende Verwendung. Die außergewöhnlichen Eigenschaften des reinen Metalls, verschiedener Legierungen sowie einiger Berylliumverbindungen ließen es zu einem hochgeschätzten Werkstoff in zivilen und militärischen Bereichen werden.
Aufgrund der steigenden Verwendung von Beryllium, nicht zuletzt als Bestandteil von modernen Hochenergietreibstoffen für Raketenantriebe, stellt sich die Frage einer Zunahme der außerberuflichen Berylliumbelastung der Bevölkerung.
In der vorliegenden Arbeit soll daher untersucht werden, ob evtl. eine entsprechende Veränderung des Berylliumgehaltes im Lungengewebe des Menschen nachzuweisen ist.

2. Zur Bedeutung des Berylliums in Technik und Medizin

2.1 Eigenschaften und technische Verwendung

Beryllium, ein Element aus der Gruppe der Erdalkalimetalle, chem. Symbol Be, kommt in der Natur ausschließlich in Form von Verbindungen vor. Es ist Bestandteil von zahlreichen Mineralien wie Beryll, Smaragd, Aquamarin und anderen.
Das durch Schmelzelektrolyse gewonnene reine Metall ist sehr spröde. Dieser Nachteil läßt sich durch spezielle pulvermetallurgische Verfahren, wie Sinterung in Edelgasatmosphäre, verringern.
Beryllium, seine Verbindungen und Legierungen zeichnen sich durch besondere chemisch-physikalische Eigenschaften aus. Dazu gehören:
große Festigkeit bei geringem spez. Gewicht (1,85 kg/l bei 20° C), hohe Elastizität von Beryllium-Kupfer-Legierungen, hohe Schmelztemperatur (Be: 1283° C, BeO: 2570° C) und Oxidationsbeständigkeit, gute Wärmeleitfähigkeit und hoher elektrischer Isolationswiderstand bei Be-Oxid, große Formbeständigkeit bei Temperaturschwankungen, besondere kernphysikalische Eigenschaften wie geringe Neutronenabsorption.

Beryllium und seine Verbindungen, Legierungen wie Berylliumkupfer und Keramikverbindungen finden in zunehmendem Maße in zivilen und militärischen Bereichen von Industrie und Technik Verwendung /81,82,92,109/.
Einige Anwendungen seien hier aufgeführt:
in der Luft- und Raumfahrt als Konstruktionsmaterial und Treibstoffzusatz, für formstabile Präzisionteile wie Sprung- und Blattfedern in optischen und mechanischen Geräten. z.B. Hochgeschwindigkeitskameras,

in der Halbleitertechnik als Isolator und Wärmeleiter, in der Elektrotechnik für Tonabnehmersysteme, Lautsprechermembranen und Elektroden für spezielle Zwecke, für Bremsbeläge, funkenfreie Werkzeuge und chirurgische Instrumente, als Strahlenaustrittsfenster in der Röntgentechnik und als Moderator und Reflektor im Reaktorbau.

2.2 Arbeitsmedizinische Gesichtspunkte

2.2.1 Akute und chronische Berylliumintoxikation

Arbeitsmedizinische Bedeutung erlangte Beryllium durch akute Vergiftungen und eine gesundheitsschädigende Wirkung bei chronischer Exposition. Hauptsächlich betroffen sind die Atmungsorgane und die Haut /86/.
Nach Inhalation von berylliumhaltigen Stäuben und Dämpfen, nach direktem Kontakt und nach Kontamination von Wunden mit berylliumhaltigen Stoffen können die seit 1942 als Berufskrankheit anerkannten Krankheitsbilder der akuten Berylliumintoxikation und der chronischen Lungenberylliose, der Berylliumdermatitis und des Berylliumulkus der Haut entstehen.
Letzteres trat früher vor allem nach Verletzungen an Scherben von Leuchtstoffröhren auf, die bis zum Jahre 1950 eine berylliumhaltige Fluoreszensbeschichtung besaßen /52,63,93/.

Den Erkrankungen der Lunge kommt von den genannten Krankheiten die größte Bedeutung zu. Die akute Berylliumintoxikation tritt als kurzdauernde, fieberhafte Erkrankung ähnlich dem Metalldampffieber in Erscheinung. In schwerer Form zeigt sie sich als Entzündung der Atemwege als Tracheitis, Bronchitis oder chem. Pneumonie.

Dazu ist die mindestens mehrstündige Inhalation von größeren Mengen wasserlöslicher Berylliumverbindungen wie Berylliumchlorid, -nitrat und -fluorid aber auch relativ unlöslicher Berylliumverbindungen Voraussetzung. Meistens sind Konzentrationen von mehreren 100 µg Be/m^3 notwendig /9,103/. Akute Erscheinungen wurden aber auch schon bei Berylliumkonzentrationen von 20 - 60 µg/m^3 beschrieben /78/. Die akute Erkrankung kann meist nach ca. 36 Stunden zu einem Lungenödem führen, das häufig einen tödlichen Verlauf nimmt (Berylliose, Typ Ohio /121/).

Die chronische Berylliose kann noch mit einer Latenz von über 25 Jahren nach einer akuten Vergiftung auftreten /33/. Dies ist nach Kühn /65/ in 11 % der akuten Erkrankungen der Fall. Aber auch nach langfristiger Inhalation von sehr geringen Berylliummengen ist die Entwicklung einer chronischen Berylliose möglich (Berylliose, Typ Massachusetts /83,94/).
So erkrankten Personen, die jahrelang maximal 0,1 µg Be/m^3 eingeatmet hatten, an Berylliose /110/. Im Gegensatz zur akuten Form spielen bei der chronischen Berylliose unlösliche Berylliumverbindungen wie Berylliumoxid als pathogenetischer Faktor die größere Rolle.
Zusätzlich ist beim Be-Oxid die Temperatur bei seiner Herstellung aus Be-Hydroxid für seine toxikologische Wirksamkeit von Bedeutung: Je höher diese Calcinierungstemperatur ist, umso geringer erscheint die toxikologische Potenz. Das bei Temperaturen um 500° C entstehende Be-Oxid (low-fired) besitzt eine besonders große Pathogenität, während das über 1500° C calcinierte Be-Oxid (high-fired) physiologisch inert zu sein scheint /101/.

Die pathologischen Veränderungen der chronischen Berylliose ähneln denen der Boeckschen Sarkoidose. Sie betreffen im besonderen die Hiluslymphknoten - allerdings im Gegensatz zur Sarkoidose meist einseitig - und das Lungengewebe, in dem es zu einer Hyalinisierung und fibrotischen Umwandlung kommt /33,49,102/.
Im Röntgenbild zeigen sich dabei unspezifische granuläre Knötchen und streifenförmige Veränderungen. Den nicht ausgesprochen einheitlichen und auch nicht typischen Röntgenveränderungen geht oft um mehrere Jahre die Einschränkung der Vitalkapazität voraus, was als frühes Warnsignal der chron. Berylliose angesehen werden muß /86/.

Histologisch ist die chronische Berylliose durch epitheloidzellige Granulome gekennzeichnet, wie sie auch bei der exogen-allergischen Alveolitis (Farmer-Lunge), dem M. Crohn und vor allem der Sarkoidose vorkommen /49,51, 131/. Im Gegensatz zu dieser sind zusätzliche Zeichen einer Entzündung vorhanden /50/. Diese histologischen Veränderungen kommen außer in der Lunge auch in anderen Organen wie Leber, Nieren und ZNS vor.

Als wahrscheinliche Ursache der chron. Berylliose gelten Autoimmunprozesse und spätallergische,d.h. zellvermittelte Vorgänge, die eine individuelle Prädisposition voraussetzen /3,15,16,64,71,80,87,99,102,131,132,138/. Dafür spricht auch die Zunahme der blastogenen Transformationsrate der Lymphozyten /23,37/ und die Hemmung von Makrophagen /41/ bei berylliumexponierten Personen nach Zugabe von Beryllium. Als Lymphozytentransformationstest bzw. Makrophagenmigrations-Hemmtest können diese immunologischen Reaktionen als zuverlässige Verfahren zur Diagnostik einer Berylliumallergie von exponierten Personen eingesetzt werden /37,48/. Das erhebliche Risiko einer Sensibilisierung und Exazerbation einer latenten Berylliose, wie es bei dem früher

angewandten Hauttest nach Curtis /107/ bestand, ist bei diesen Tests nicht mehr gegeben.
Interessant im Zusammenhang mit der Einordnung der chron. Berylliose als immunologisches Geschehen sind u.a. folgende Feststellungen:

- Das Fehlen einer konstanten Dosis-Wirkungs-Beziehung bei exponierten, erkrankten Personen, wobei schwerwiegende Erkrankungen häufig bei nur minimal exponierten Personen auftraten /22,39/.
- Frauen zeigten eine größere Anfälligkeit an chronischer Berylliose zu erkranken, was möglicherweise mit einem geringeren lymphatischen Abtransport aus der Lunge in Zusammenhang gebracht werden kann /21,91/.
- In der Therapie der chronischen Berylliose spielen Kortikoide mit ihrer immunsuppressiven Wirkung eine entscheidende Rolle /20/.

2.2.2 Frage einer krebserzeugenden Wirkung

Neben der hemmenden Wirkung auf die Enzyme Phosphoglucomutase und insbesondere alkalische Phosphatase /24,111/, hemmt oder beeinflußt Beryllium die Replikation der DNA /68,117,135/. Inwieweit damit eine bei einzelnen Tieren beobachtete krebserzeugende Wirkung des Berylliums in Zusammenhang gebracht werden kann, ist bisher ungeklärt.
Ebenso ist die Frage der Entwicklung einer Krebserkrankung nach Berylliumexposition in Abhängigkeit von immunologischen Faktoren, ähnlich wie es bei der chron. Berylliose als weitgehend gesichert gilt, nicht geklärt. Bemerkenswert sind jedoch in diesem Zusammenhang folgende Beobachtungen:

- Im Tierversuch reagierten Ratten auf Berylliumexposition mit der Ausbildung von Lungenkarzinomen,

wobei eine Sensibilisierung über die Haut jedoch nicht möglich war, während Meerschweinchen zwar eine Hypersensibilität nach kutaner Berylliumexposition zeigten, jedoch bisher niemals mit bösartigen Geschwülsten reagierten /1,2,4,11,12,14,119,122 - 124/. Das immunologische Verhalten des Meerschweinchens erscheint in diesem Fall wie auch bei anderen immunologischen Reaktionen dem des Menschen sehr ähnlich /92/.

- In einer epidemiologischen Studie an 145 Arbeitern einer Berylliumextraktionsfabrik traten 6 Fälle von Lungenkrebs auf, statt zwei zu erwartender Erkrankungen. Diese Beobachtung kann zwar nicht als Beweis für eine kanzerogene Wirkung des Berylliums beim Menschen gewertet werden, da u.a. eine Exposition gegenüber anderen krebserzeugenden Noxen, insbesondere Zigarettenrauch, nicht berücksichtigt worden war, doch ist interessant, daß alle 6 Lungenkrebsfälle bei Arbeitern auftraten, die nur kurze Zeit, zwischen 1 Woche und 3 Monaten, in der Fabrik beschäftigt waren /69,70,85/.

Die krebserzeugende Wirkung von inhalierten Berylliumverbindungen ist in einem Tierversuch mit Kaninchen (Osteosarkome /26/) und in mehreren Versuchen mit Ratten (Lungenkarzinome /90,98,125/) bewiesen. I.v.-Injektionen von verschiedenen Berylliumverbindungen führten zu Osteosarkomen bei Kaninchen /7,30,35,43/.

Für den Menschen ist die Kanzerogenität bisher nicht eindeutig nachgewiesen worden /45,85/. Bei den vereinzelt berichteten Fällen von Lungenkrebs nach Berylliumexposition /69,70/ waren neben weiteren Ansatzpunkten der Kritik vor allem andere krebsauslösende Ursachen nicht genügend ausgeschlossen worden /28/. Es kann daher zur Zeit nur von der Möglichkeit einer kanzerogenen Wirkung des Berylliums beim Menschen gesprochen werden.

In den Richtlinien der Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe gehört Beryllium seit 1973 in die Gruppe der Stoffe (III A 2), "die bislang nur im Tierversuch sich nach Meinung der Kommission eindeutig als kanzerogen erwiesen haben und zwar unter Bedingungen, die der möglichen Exponierung des Menschen am Arbeitsplatz vergleichbar sind" /42,73/.
In den USA gilt Beryllium nach den Richtlinien der Occupational Safety and Health Agency als potentielles menschliches Karzinogen /94,96/.

2.2.3 Grenzwerte für die berufliche Berylliumexposition

Wie hoch die Gefahr einer Gesundheitsschädigung durch Beryllium eingestuft wird, zeigen die Sicherheitsvorschriften und die Angaben über die maximal zulässigen Berylliumkonzentrationen in der Atemluft an Arbeitsplätzen bei der Gewinnung und Bearbeitung von Beryllium und seinen Verbindungen.

Erstmalig wurde im Jahre 1949 von der amerikanischen Atomic Energie Commission (AEC) ein Durchschnittswert von 2 µg Be/m^3 bei täglicher Belastung während der Arbeitszeit als unbedenklich angegeben /103/.
Im Jahre 1972 wurde dieser Wert (2 µg/m^3) als Threshold Limit Value (TLV) für eine 8stündige Exponierung pro Tag festgesetzt. Als Kurzzeitwert wurde in den USA für die maximal 1/2stündige Exponierung pro Tag dieser Wert auf 25 µg/m^3 festgelegt /79/. Als ökologisch zulässiger Wert für die Bevölkerung in der Umgebung von berylliumverarbeitenden Industrieanlagen wird als Air Quality Standard von der AEC eine mittlere monatliche Konzentration von 0,01 µg Be/m^3 angegeben.

Im Jahre 1974 wurde auf Grund einiger epidemiologischer Untersuchungen vorsorglich in den USA der TLV-Wert auf 1 µg/m^3 reduziert. Im Jahre 1982 wurde er nach weiterer Forschung wieder auf 2 µg Be/m^3 angehoben /113/.

In der UdSSR und den meisten osteuropäischen Ländern gilt ein Grenzwert von 1 µg Be/m^3 /113/.
Die WHO empfahl 1969 einen MAK-Wert (Maximale Arbeitsplatzkonzentration) von 1 - 2 µg Be/m^3 /47/.

In der Bundesrepublik Deutschland bestehen seit 1982 entsprechend der Einstufung als potentielles Kanzerogen zwei Werte für die Technische Richtkonzentration (TRK): Beim Schleifen von Berylliummetall und Berylliumlegierungen sind 5 µg Be/m^3, im übrigen 2 µg Be/m^3 Gesamtstaub zulässig /115/.

Unter Gesamtstaub oder Grobstaub versteht man dabei den Anteil des an einem Arbeitsplatz anfallenden Staubs, der von der dort beschäftigten Person eingeatmet wird. Meßtechnisch wird der Gesamtstaub durch Probenahmegeräte mit einer Ansauggeschwindigkeit von 1,25 m/s $\pm$ 10 % erfaßt. Der Gesamtstaub wird zum Teil wieder ausgeatmet, zum Teil im Atemtrakt deponiert. Der Ort der Ablagerung ist dabei durch die Partikelgröße bzw. den aerodynamischen Durchmesser der Staubteilchen bestimmt. Dieser ist definiert als der Durchmesser einer Kugel mit der Dichte 1, welche die gleiche Sinkgeschwindigkeit in Luft besitzt wie das Teilchen. Dies gilt für beliebig geformte Partikel.
Zur Beurteilung des gesundheitlichen Risikos von Stäuben ist neben der Toxizität, Konzentration und Expositionszeit der Ort der Ablagerung innerhalb des Respirationssystems von Bedeutung: Partikel, die im Nasen-Rachen-Kehlkopfbereich und im Tracheo-Bronchialbaum abgelagert werden, können durch den muko-ziliaren Reinigungsapparat

wieder nach außen bzw. in den Verdauungstrakt befördert werden. Dies ist bei den Teilchen, die bis in die Bronchiolen und Alveolen vordringen, nicht möglich, da diese Abschnitte der Atemwege kein Flimmerepithel besitzen. Die Gesamtheit dieser tief im Atemtrakt abgelagerter Partikel wird als Feinstaub bezeichnet und meßtechnisch durch ein Filtersystem ermittelt, das 50 % der Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser von 5 µm abscheidet /73/.

Um entsprechend der TRK-Definition die berufliche Exposition der in der berylliumverarbeitenden Industrie tätigen Personen so gering als irgend möglich zu halten, dienen Sicherheitsmaßnahmen wie Arbeiten im geschlossenen System (glove-box), Absaugung und Spezialkleidung. Als Vorsorge gelten arbeitsmedizinische Untersuchungen und "biological monitoring". Dazu zählt die regelmäßige Bestimmung des Berylliumgehalts in der Luft bzw. als Wischtest am Arbeitsplatz, sowie im Urin und in besonderen Fällen im Blut der exponierten Personen. Die Kontrolle der Vitalkapazität ist empfehlenswert.

Die größte Gefahr einer Berylliumexposition dürfte bei der Extraktion und Sinterung von Beryllium bestehen, d.h. in den Bergwerken und Verhüttungsanlagen. Derartige Betriebe existieren vor allem in Brasilien und der UdSSR sowie in den USA, Teilen von Afrika und in Japan /94/. In der Bundesrepublik Deutschland, wo es solche Industrieanlagen nicht gibt, beschränkt sich die Gefährdung auf berylliumhaltigen Staub, wie er während der Weiterverarbeitung von Berylliumkupfer und Berylliumoxid beim Schmelzen und Schleifen entsteht, sowie beim Arbeiten mit Berylliumsalzen und Berylliumkeramiken.

Wie außerordentlich hoch die Berylliumbelastung beim mechanischen Bearbeiten von berylliumhaltigen Legierungen

sein kann, zeigen u.a. neuere Untersuchungen aus dem Jahre 1983 von Minkwitz et al. /75/: Bei personenbezogenen Messungen des Berylliumanteils im Gesamtstaub lagen 29 % der Meßwerte oberhalb des TRK-Werts von 5 $\mu g/m^3$ und 57 % der Werte über dem TRK-Wert von 2 $\mu g/m^3$!
Die Konzentrationswerte im Feinstaub lagen beim Schleifen und Polieren ca. um den Faktor 10 darunter, während beim Schweißen von Berylliumlegierungen die Konzentrationen im Grob- und Feinstaub annähernd gleich groß waren. Schweißrauch besteht größtenteils aus alveolargängigen Partikeln mit einer Größe unter 1 μm!
Diese hohen Berylliumkonzentrationen wurden trotz Absaugvorrichtung erreicht und zeigen, wie wichtig eine arbeitsmedizinische Überwachung der exponierten Personen ist.

2.3 Außerberufliche Berylliumexposition

Eine außerberufliche Berylliumbelastung der Bevölkerung (low level exposure) durch berylliumverarbeitende Fabriken ist heutzutage praktisch nicht mehr gegeben. Die Abgabe von berylliumhaltigem Staub wird durch den industriellen Einsatz von leistungsfähigen Filteranlagen verhindert.
Ältere Untersuchungen aus dem Jahre 1959 ergaben einen erhöhten Berylliumgehalt im Lungengewebe von Personen, die in der Nähe von berylliumverarbeitenden Fabriken lebten /110/. Dabei handelte es sich allerdings teilweise um die Angehörigen der in dieser Fabrik beschäftigten Arbeiter. Die erhöhte Berylliumbelastung der Familienmitglieder war somit in einem Teil der Fälle durch die mit nach Hause genommene kontaminierte Arbeitskleidung verursacht /88/.

Eine Gefährdung für die Bevölkerung könnte allerdings durch Unglücksfälle eintreten. Durch Verkehrsunfälle beim Transport, Brände in Fabrikationsanlagen oder Sabotageakte könnten große Mengen von Beryllium unkontrolliert freigesetzt werden. In den USA existieren für solche Unfälle Public Emergency Limits (PEL) für gefährliche Stoffe /92/. Dabei handelt es sich um Konzentrationsangaben pro Zeitintervall, die auch im Falle von Katastrophen in der Umgebung nicht überschritten werden dürfen. Für Beryllium liegt der Wert bei 100 $\mu g/m^3$ pro 10 Minuten, d.h. Transport, Lagerung und Umgang mit Beryllium muß so erfolgen, daß auch bei einem Unfall dieser Wert nicht überschritten werden kann.

Für die außerberufliche Berylliumbelastung der Bevölkerung muß auch die Verwendung von Beryllium in der Weltraumforschung berücksichtigt werden:
Beim Wiedereintritt der Raumflugkörper in die Erdatmosäre wird die dabei auftretende große Reibungswärme durch Hitzeschilde abgefangen, die aus einer Berylliumoxidkeramik bestehen. Dabei verdampft ein gewisser Teil des Berylliumoxids in den äußeren Schichten der Atmosphäre.
Im Gegensatz dazu sind die Mengen, die durch die Verwendung von Beryllium als Bestandteil von Festtreibstoffen für Raketenantriebe in die Atmosphäre gelangen, um Zehnerpotenzen größer /60,92/. Durch den bis zu 20 % betragenden Berylliumzusatz vor allem in Form von Berylliumhydrid läßt sich u.a. eine Steigerung der Verbrennungsenergie des Festtreibstoffs erreichen.
Im zivilen und hauptsächlich im militärischen Bereich ist seit dem 2. Weltkrieg mit einer zunehmenden Verwendung dieser Festtreibstoffe zu rechnen. Durch die Verbrennungsrückstände gelangen erhebliche Mengen von Beryllium in feinster, lungengängiger Form in die Atmosphäre. Letztlich nicht geklärt ist dabei die Frage,

inwieweit dieses Beryllium eine für den Menschen gesundheitsgefährdende Wirksamkeit besitzt. In Anlehnung an Versuchsergebnisse, die eine anscheinende Ungefährlichkeit von Berylliumoxid, das bei Temperaturen über 1000° C entsteht, ergaben /101/, wurden in einem Tierversuch bei Hunden und Affen keine schädlichen Auswirkungen innerhalb von 4 Jahren festgestellt, nachdem sie den Abgasen von Raketenantrieben ausgesetzt worden waren /136/.

3. Die Relation zwischen der Berylliumbelastung der Umwelt und dem Auftreten des Boeckschen Sarkoids

Die Toxizität des Berylliums wurde in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts zunächst nicht erkannt /44/ und folglich wurden bei der zunehmenden Gewinnung und Verarbeitung des Berylliums und seiner Verbindungen auch keinerlei Schutzmaßnahmen eingehalten. Während des 2. Weltkriegs stieg der Berylliumbedarf der Großmächte stark an. Durch den damit verbundenen Produktionsanstieg kam es in dieser Zeit und in den folgenden Jahren zu zahlreichen akuten /121/ und chronischen Berylliumerkrankungen u.a. in der Leuchtstoffröhrenfabrikation /38/. Seit Erkennung der toxischen Wirkung des Berylliums kamen zunehmend Schutzmaßnahmen beim berufsmäßigen Umgang mit Beryllium in den letzten 20 Jahren zur Anwendung. Seither wurden akute Vergiftungen nur sehr selten beobachtet /84/.
Eingehende Untersuchungen über die erheblichen individuellen Unterschiede eines "no adverse effect level" bei Mensch und Tier haben gezeigt, daß eine durch präzise histologische Untersuchungen gesicherte kanzerogene Wirkung, wie bereits erwähnt, allenfalls in vereinzelten Fällen in Tierversuchen nachgewiesen werden konnte. Beim Menschen war epidemiologisch kein Nachweis einer krebserzeugenden Wirkung zu erbringen.
Es zeigte sich vielmehr ein Überwiegen von Krankheitsbildern, die dem Morbus Boeck auffallend ähnlich waren. Nachdem eine Zunahme der Erkrankungen an M. Boeck in den 50er und 60er Jahren beobachtet worden war, tauchte die Hypothese auf, daß es sich hierbei um außerberufliche Fälle von Berylliose handelte, die aufgrund der differentialdiagnostischen Schwierigkeiten als M. Boeck fehlgedeutet wurden und die erhöhte Umweltbelastung durch Beryllium als Folge der Verwendung in Raketentreibstoffen hierfür verantwortlich sei.

3.1 Berylliumgehalt menschlichen Lungengewebes als Hinweis auf eine Berylliumexposition

Die Aufnahme von Beryllium in den menschlichen Körper erfolgt durch Inhalation über die Lunge /17,18/, durch direkten Kontakt über die Haut /144/ und in geringem Maße auch mit der Nahrung über den Magen-Darm-Kanal/89,144/. Dem inhalativen Weg kommt bei der nicht lipophilen Struktur des Berylliums und seiner anorganischen Verbindungen aufgrund der großen inneren Oberfläche der Lunge besondere Bedeutung zu /145/.
Der Transport des Berylliumions und seiner hydratisierten Verbindungen geschieht in Bindung an die Präalbumin- und γ-Globulinfraktion des Blutes /106/. Eine langfristige Speicherung erfolgt besonders im Skelett und bei unlöslichen Verbindungen in der Lunge /16,83,97/. Wie bei Blei und anderen Metallen ist unter Streßbedingungen eine Umverteilung des Berylliums von den Knochen in die Blutbahn und bevorzugt in die Leber und die Lunge nachzuweisen /141/.

Der Berylliumgehalt des menschlichen Lungengewebes ist im wesentlichen abhängig von der Berylliumkonzentration der eingeatmeten Luft und kann bei der geringen Löslichkeit des Berylliums, seines Oxids und vieler seiner Salze als Maßstab für die Berylliumbelastung angesehen werden, der ein Mensch während seines Lebens ausgesetzt war.

Im Rahmen dieser Arbeit bestand die Möglichkeit, den Berylliumgehalt in konservierten Lungen- und Leberpräparaten aus den Jahren 1933 - 1959 zu bestimmen und mit der Berylliumkonzentration in Lungengewebe aus den Jahren 1982 - 1985 zu vergleichen.

4. Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial konnten wir Gewebeproben der Pathologischen Institute des Katharinenhospitals in Stuttgart (Probe 1 - 16 und 27 - 37) und der Universität Tübingen (Probe 17 - 26) zur Verfügung gestellt bekommen.

4.1 Gewebeproben aus den Jahren 1933 - 1959

Die Lungenpräparate (Probe 1 - 10) stammten von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen der Lunge, die in den Jahren 1933 bis 1959 gestorben waren. Außer der Krankheit war das Alter und Todesjahr dieser Patienten bei den Präparaten vermerkt gewesen. Bei sämtlichen Personen war weder eine Berylliose diagnostiziert noch eine berufliche Berylliumexposition dokumentiert gewesen. Letzteres schließt bei der seinerzeit üblichen Erhebung der Anamnese jedoch eine berufliche Exposition nicht aus.
Die Leberpräparate (Probe 11 - 16) waren aus den Jahren 1934 bis 1958, wobei außer dem Todesjahr nur noch die Erkrankung dieser Personen bekannt war.
Zu Demonstrationszwecken waren damals diese Organe in Gläsern mit Formalin konserviert worden. Einige dieser Schaugläser blieben unbeschädigt bis in unsere Zeit erhalten.

4.2 Gewebeproben aus den Jahren 1982 - 1985

Um den Berylliumgehalt im Lungengewebe von Menschen unserer Zeit zu ermitteln, wurden von Patienten, die an verschiedenen Krankheiten in den Jahren 1982 bis 1985 verstorben waren, Lungengewebsproben entnommen (Probe 17 - 37). Diese Gewebeproben wurden über ca. zwei Wochen in Formalin (3,5%ig) gelegt. Dadurch verfestigte sich zum einen das Gewebe, wodurch eine gewisse Angleichung an die Konsistenz der konservierten alten Proben erreicht wurde, zum andern wurde damit auch die Möglichkeit berücksichtigt, daß bei den alten Proben evtl. Beryllium aus dem Gewebe in das Formalin übergegangen war.
Von den Personen war Alter, Geschlecht und Erkrankung bekannt. Weitere Angaben, die Rückschlüsse auf eine besondere Berylliumexposition zuließen (Beruf, Wohnort, Zigarettenkonsum) konnten nicht ermittelt werden.

5. Methodik

5.1 Aufbereitung der Gewebeproben

Von den Gewebeproben, die alle aus peripheren Bereichen der Organe stammten, wurde jeweils ein 0,3 - 0,5 g großes Stück in ein verschließbares Gefäß mit 10 ml Volumen eingewogen. Als Gefäßmaterial wurde Polytetrafluoräthylen (PTFE) verwendet, um eine Adsorption des Berylliums an der Gefäßwand auszuschließen.
Dieses Gefäß war zuvor in 65proz. Salpetersäure während 2 h ausgekocht, anschließend 10 h über siedender HNO_3 und schließlich 10 h über siedendem Aqua bidest. ausgedämpft worden. Durch diese Vorbehandlung der Gefäße ließ sich neben der erzielten Reinigung die Kontaminationsgefahr durch Adsorption und Desorption von Beryllium an der Gefäßwand auf ein Minimum reduzieren /118/.
Die Gefäße sowie die Salpetersäure wurden auf ihre Reinheit, d.h. ihren Berylliumgehalt untersucht.
Die eingewogene Probe wurde mit 0,7 ml HNO_3 (65proz., Suprapur^R) versetzt und in einem Druckaufschlußbehälter nach Tölg bei 180° C über 2 h mineralisiert /62/.

5.2 Bestimmung des Berylliumgehalts mittels flammenloser Atom-Absorptions-Spektrometrie

Die quantitative Bestimmung des Berylliums erfolgte in Anlehnung an das Beryllium-Standardadditionsverfahren der Arbeitsgruppe "Analytische Chemie" der Deutschen Forschungsgemeinschaft /142/ mit der Methode der flammenlosen Atom-Absorptions-Spektrometrie (AAS) im präparierten Graphitrohr /127,129/. Voraussetzung hierfür

war, daß die Meßergebnisse innerhalb des linearen Arbeitsbereichs der Meßanordnung lagen. Teile der Probenlösung wurden mit zwei unterschiedlichen Berylliummengen aufgestockt (0,5 ng bzw. 1 ng Be/0,2 ml Probenlösung) und der Berylliumgehalt der beiden Aufstockungen sowie der reinen Probe mit Hilfe der flammenlosen AAS im Graphitrohr bestimmt. Dazu wurde ein konstantes Meßvolumen (25 µl) direkt in das Graphitrohr einpipettiert.
Das Graphitrohr war zuvor durch 24stündiges Einlegen in eine gesättigte Zirkoniumlösung und anschließende Trocknung vorbehandelt und damit für die Messung optimiert worden. Durch die Zirkoniumschicht wurde die Nachweisgrenze für Beryllium auf nahezu das 5fache gesteigert.
Für die Atomisierung wurde ein Temperaturprogramm gewählt, dessen optimale Temperatur- und Zeitwerte zuvor mit einer bekannten Probenlösung ermittelt wurden. Dadurch konnte der Einfluß von störenden Begleitelementen in der Probe auf das Meßergebnis weitgehend verhindert werden /142/. Bei dem Meßvorgang durchstrahlte das elementspezifische Licht einer Beryllium-Hohlkathodenlampe (Wellenlänge 234,86 nm) die atomisierte Probe im Graphitrohr. Dabei trat entsprechend der Zahl der Berylliumatome eine mehr oder weniger starke Schwächung des Lichtstrahls durch atomare Absorption auf. Diese Intensitätsminderung wurde gemessen und in Form der Extinktion angezeigt.
Das organische Probenmaterial lag nach der Mineralisierung mit Salpetersäure in einer leichtflüchtigen Matrix vor, bei der störende Absorptionen während der Messung auftreten konnten. Diese unspezifischen Absorptionen ließen sich durch eine gleitende thermische Vorbehandlung, bei der dafür verantwortliche leichtflüchtige Substanzen entfernt und größere Moleküleinheiten zur Dissoziation gebracht wurden, reduzieren, doch konnte ein unter 5 % liegender Einfluß auf das Meßergebnis nicht ausgeschlossen werden.

5.3 Auswertung der Meßergebnisse

Für jede Probe wurde einerseits aus den Extinktionswerten der beiden Aufstockungen und der nicht aufgestockten Probe und andererseits aus der jeweils hinzugefügten Berylliummenge aus dem Diagramm der Berylliumgehalt der Probenlösung ermittelt (Abb. 1):
In einem Koordinatensystem, in dem die drei Extinktionswerte (Ordinate) gegen die jeweils hinzugefügte Berylliummenge (Abszisse) aufgetragen wurden,ließ sich durch die resultierenden drei Meßpunkte eine Gerade legen. die im Schnittpunkt mit der Abszisse den Betrag der gesuchten Berylliummenge in der nicht aufgestockten Probenlösung ergab. Aus diesem Wert konnte der Berylliumgehalt pro Gramm der Gewebeprobe errechnet werden.

Die Kriterien der Nachweisgrenze, Richtigkeit und Präzision zu den Abschnitten 5.1 bis 5.3 sind in den Kapiteln 9 - 11 eingehend wiedergegeben.

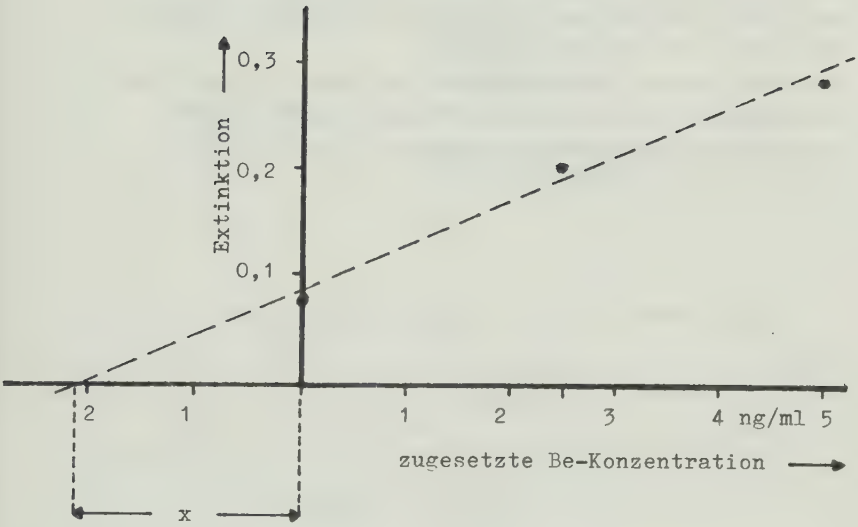

Abb. 1. Additionsmethode: Nach Zugabe von bekannten Berylliumkonzentrationen zur Probenlösung (2,5 und 5 ng/ml) erhält man durch Extrapolieren der Eichgeraden gegen die Extinktion Null die gesuchte Konzentration x der Probenlösung.

6. Ergebnisse

Die ermittelten Berylliumwerte der einzelnen Proben sowie Angaben über die entsprechenden Personen (Alter, Geschlecht, Erkrankung bzw. Todesursache) sind in den Tabellen 1 - 5 zusammengefaßt.
Sämtliche Konzentrationsangaben beziehen sich auf das Feuchtgewicht von in Formalin konserviertem Gewebe (Umrechnungsfaktor für Trockengewicht s.S. 67).

Tabelle 1. Berylliumgehalt der Lungenpräparate aus den Jahren 1933 - 1939.

Probe	Todes-jahr	Alter des Patienten	Erkrankung	Be-Gehalt (ng/g)
1	1933	32 J.	Lymphogranulo-matose	15,9
2	1934	51 J.	Pneumonie	29,1
3	1935	38 J.	Tuberkulose	17,7
4	1939	60 J.	Lungenmetastase bei Nebennieren-Ca	8,0

Tabelle 2. Berylliumgehalt der Lungenpräparate aus den Jahren 1953 - 1959.

Probe	Todes-jahr	Alter des Patienten	Erkrankung	Be-Gehalt (ng/g)
5	1953	(nicht bekannt)	Tuberkulose, Neurofibrom der Lunge	13,8
6	1958	53 J.	Tuberkulose	27,6
7	1958	78 J.	Sarkomatose	43,4
8	1958	(nicht bekannt)	Siliko-tuberkulose	25,2
9	1959	19 J.	Tuberkulose	37,9
10	1959	81 J.	Pilzbefall der Lunge	22,0

Tabelle 3. Berylliumgehalt der Leberpräparate aus den Jahren 1934 - 1958.

Probe	Todes-jahr	Erkrankung	Be-Gehalt (ng/g)
11	1934	Eklampsie	21,8
12	1936	(nicht bekannt)	7,4
13	1957	Lebermetastasen	9,9
14	1957	Fibrose	20,1
15	1958	Hepatitis	9,3
16	1958	Fibrose	34,3

Tabelle 4. Berylliumgehalt der Lungenpräparate aus dem Jahre 1982.

Probe	Alter des Patienten	Geschl.	Erkrankung	Be-Gehalt (ng/g)
17	68 J.	w	Hirnblutung	3,0
18	51 J.	m	(nicht bekannt)	2,6
19	69 J.	w	Apoplex	6,6
20	48 J.	w	Leberzirrhose	8,2
21	80 J.	m	Pankreas- und Prostata-Ca	9,3
22	58 J.	m	Arterielle Verschlußkht., Septikämie	8,3
23	78 J.	w	Lungenembolie	9,8
24	63 J.	w	Guillain-Barré-Syndrom	3,5
25	61 J.	m	Aortenaneurysma, Lungenödem	9,4
26	66 J.	m	Thorotrastose, Lungenfibrose	1,9

Tabelle 5. Berylliumgehalt der Lungenpräparate aus den Jahren 1984 und 1985.

Probe	Alter des Patienten	Geschl.	Erkrankung	Be-Gehalt (ng/g)
27	46 J.	m	Bronchial-Ca	1,1
28	72 J.	m	alte Lungentuberkulose	2,9
29	72 J.	w	Stammhirninsult, Atherosklerose	1,4
30	82 J.	w	alte Lungentuberkulose, Lungenmetastase eines Hypernephroms	1,7
31	53 J.	m	zentrale Massenblutung, Atherosklerose	0,7
32	78 J.	m	Apoplex	0,8
33	50 J.	m	Atherosklerose, Herzinfarkt	0,8
34	84 J.	m	nekrotisierende Pneumonie, Lungeninfarkt	2,1
35	79 J.	m	Bronchial-Ca	0,7
36	63 J.	m	Mundboden-Ca, abszedierende Bronchopneumonie	0,5
37	59 J.	m	Plattenepithel-Ca der Lunge	1,0

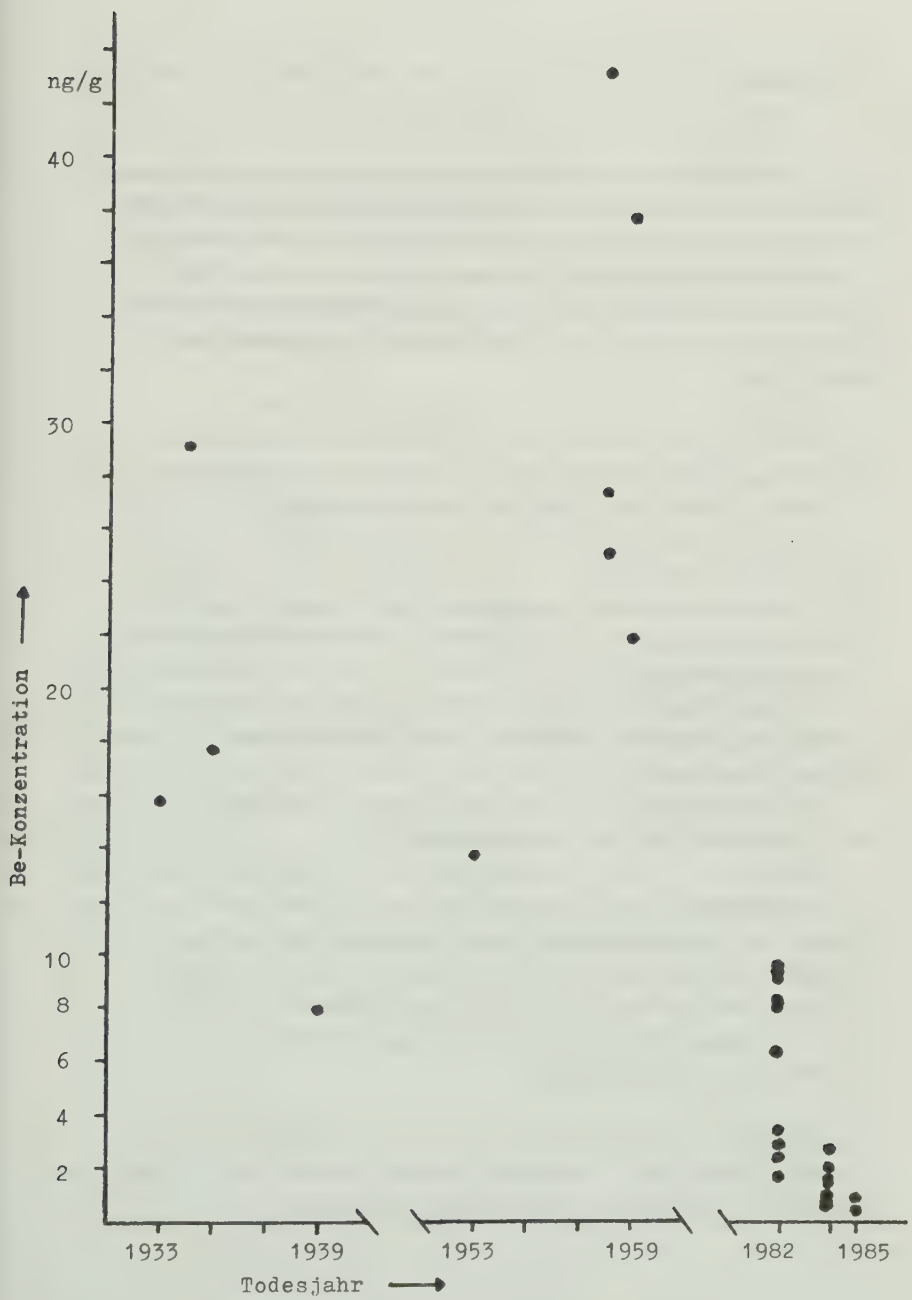

Abb. 2. Berylliumgehalt der Lungengewebsproben in Gegenüberstellung zum Todesjahr.

7. Diskussion

Die Aussagekraft der Ergebnisse war dadurch sehr eingeschränkt, daß nur sehr wenige alte Gewebeproben für die Untersuchung zur Verfügung standen. Als Untersuchungsergebnis konnten daher nur gewisse Hinweise zu der Frage erwartet werden, wie sich die Berylliumbelastung der Bevölkerung im Laufe der letzten Jahrzehnte verändert hat.

7.1 Frage eines Zusammenhangs zwischen dem Berylliumgehalt der Lunge und dem Todesjahr (Abb. 2)

Die Gewebeproben aus den Jahren 1933 - 1959 (Probe 1 - 10) lassen sich in bezug auf das Todesjahr in zwei Gruppen aufteilen:

1.) Probe 1 - 4 (Tab. 1): Lungengewebe von Personen, die zwischen 1933 und 1939, also vor dem 2. Weltkrieg, starben.

2.) Probe 5 - 10 (Tab. 2): Proben von Personen, die zwischen 1953 und 1959 starben.

Der niedrigste Berylliumwert (8,0 ng/g) befindet sich unter den Proben der 1. Gruppe, während die beiden höchsten Werte (37,9 und 43,4 ng/g) in der 2. Gruppe liegen. Der durchschnittliche Berylliumgehalt ist in der 1. Gruppe mit 17,7 ng/g geringer als in der 2. Gruppe mit 28,3 ng/g.

Daraus läßt sich die Frage ableiten, ob die Menschen in den Jahren nach 1939 evtl. einer höheren Berylliumbelastung ausgesetzt waren als in den Jahren davor.

Eine mögliche Erklärung wäre die seit dem 2. Weltkrieg zunehmende Verwendung von Beryllium in Industrie und Technik, auf die bereits hingewiesen wurde. Dies gilt auch für den militärischen Bereich, wo Beryllium als Zusatzmittel in Raketenfesttreibstoffen von 1939 an in steigendem Maße Verwendung fand. Genaue Angaben über das Ausmaß, wie diese Treibstoffe in jener Zeit eingesetzt wurden, ließ sich auf Grund der wenigen zugänglichen Dokumente nicht eruieren.

Die Berylliumkonzentrationen der Gewebeproben 17 - 26, die von Patienten stammten, die im Jahre 1982 gestorben waren, liegen zwischen 1,9 und 9,8 ng/g mit einem Mittelwert von 6,3 ng/g.
Die Berylliumkonzentration in den Lungenpräparaten aus den Jahren 1984 und 1985 (Probe 27 - 37) liegt zwischen 0,5 und 2,9 ng/g mit einem Mittelwert von 1,3 ng/g.
Als mittlere Berylliumkonzentration in sämtlichen Lungengewebsproben aus neuerer Zeit ergibt sich ein Wert von 3,6 ng/g. Sie ist damit erheblich geringer als die Berylliumkonzentration in den Lungenproben aus den Jahren 1953 - 1959, die mit 28,3 ng/g einen nahezu auf das 8fache erhöhten Mittelwert gegenüber den Proben aus den Jahren 1982 - 1985 aufweisen!
Der Mittelwert der Berylliumkonzentration in den Proben aus den Jahren 1933 - 1939 ist mit 17,7 ng/g ebenfalls erhöht, allerdings nicht in demselben Maße.

Berylliumkonzentration der Lebergewebsproben

Die Leberpräparate (n = 6) stammten von Personen, die in den Jahren 1934 - 1958 gestorben waren. Ihr Berylliumgehalt liegt zwischen 7,4 und 34,3 ng/g mit einem Mittelwert von 17,1 ng/g.
Vergleichswerte von Lebergewebsproben aus heutiger Zeit standen nicht zur Verfügung, doch kann im Vergleich mit der Berylliumkonzentration in den neuen Lungengewebsproben von einem relativ hohen Berylliumgehalt der Leberproben gesprochen werden.

7.2 Nachweis einer erhöhten Berylliumexposition aufgrund von Lungengewebskonzentrationen

Nach Reeves /94/ gilt dann eine berufliche Berylliumexposition als wahrscheinlich, wenn der Berylliumgehalt der Lunge den Wert von 20 ng/g Trockengewicht, entsprechend ca. 3,5 ng/g Feuchtgewicht /65/ überschreitet. Berücksichtigt man die Einordnung des Gewichts der untersuchten Proben zwischen Feucht- und Trockengewicht (s.S.67), so kann mit einiger Sicherheit bei den Personen, die in den Jahren 1958 - 59 gestorben waren, von einer erhöhten Berylliumexposition ausgegangen werden.

Das Absinken des Berylliumgehalts im menschlichen Lungengewebe in den letzten Jahrzehnten ist bei der zunehmenden Verwendung auf die geringere industrielle Berylliumbelastung der Umwelt durch die erfolgreiche Einhaltung der Sicherheits- und Schutzmaßnahmen erklärbar. Inwieweit die Berylliumbelastung der Erdatmosphäre durch Verbrennungsrückstände von Raketentreibstoffen

in Zukunft evtl. wieder zu einer ansteigenden Berylliumbelastung des Menschen führt, kann derzeit nicht beantwortet werden. Es wurde zwar von der NASA versichert, daß solche Treibstoffe nur in den äußeren Schichten der Atmosphäre zur Anwendung kommen und daher keine Gefährdung des Menschen besteht,doch dürften auch in diesem Fall letzten Endes militärische Interessen Vorrang haben, zumal auch in der Sowjetunion die Berylliumforschung in den letzten 20 Jahren einen großen Aufschwung erlebt hat. Dies zeigt die große Zahl von Veröffentlichungen zu diesem Thema /92/.

7.3 Die Relation zwischen dem Berylliumgehalt der Lunge und Todesalter bzw. Erkrankung

Neben der hier nicht mehr zu klärenden Frage nach einer durch Wohnort und Arbeitsplatz individuell erhöhten Belastung ist das Problem zu diskutieren, ob ein erhöhter Berylliumgehalt der Lunge evtl. ein erhöhtes Morbiditätsrisiko für andere Lungenkrankheiten bedeutet und sich damit negativ auf die Lebenserwartung auswirkt. Berücksichtigt man, daß durch die Anwesenheit von Beryllium im Lungengewebe (auto-)immunologische Prozesse in Gang gesetzt werden, so ist eine dadurch veränderte Reaktion des Organismus auf jegliche Art krankheitserzeugender Noxe sehr wahrscheinlich /36/.
Die Proben 2 und 9, die deutlich über dem Durchschnitt liegende Berylliumwerte aufweisen (29,1 und 37,9 ng/g) stammten von Personen, die mit 51 bzw. 19 Jahren an einer Erkrankung der Lunge starben. Andererseits zeigen zwei Personen, die das Alter von 60 bzw. 81 Jahren erreichten (Probe 4 und 10), unter dem Durchschnitt liegende Berylliumkonzentrationen des Lungengewebes (8,0 und 22,0 ng/g).

Entsprechend der inkonstanten Dosis-Wirkungs-Beziehung des Berylliums ist bei erhöhter Berylliumexposition eine hohe Berylliumkonzentration im Urin und im Lungengewebe auch von gesunden Personen nachzuweisen /13,25, 66,74/. Auf die individuelle Disposition als notwendiger pathogenetischer Faktor wurde bereits hingewiesen.

Besondere Bedeutung hat eine Person, die das hohe Alter von 78 Jahren erreichte und den höchsten Berylliumwert von 43,4 ng/g Lungengewebe aufwies (Probe 7).
Sie war an einer Lungensarkomatose erkrankt, wobei es allerdings ungeklärt ist, ob es sich dabei um ein echtes Lungensarkom gehandelt hat, einen relativ selten vorkommenden malignen Tumor des Lungenbindegewebes, oder um die pulmonale Manifestation der Sarkoidose (M. Boeck).

7.4 Zusammenhang zwischen der Berylliumkonzentration im Lungengewebe und der pulmonalen Manifestation der Sarkoidose

Die Sarkoidose ist definiert als "multisystemische granulomatöse Erkrankung unbekannter Ätiologie, charakterisiert durch einen verstärkten zellulären Immunprozeß in befallenen Organen" /19/. Nach allgemeinbakteriellen Infektionen, Pilzinfektionen und besonders viralen Infektionen der Lunge ist ihr Auftreten beobachtet worden. Neben Knochen und Gelenken (50 %), Haut (40 %), Augen (25 %), Parotis (5 %) und Nervensystem (10 %) sind in der überwiegenden Zahl der Erkrankungsfälle die mediastinalen Lymphknoten und das Lungenparenchym (80 %) befallen. Man unterscheidet röntgenologisch hier 3 Stadien: eine beidseitige Vergrößerung der Hiluslymphknoten (I), diffuse Infiltrationen beider Lungenflügel, meist unter Rückbildung der

hilären Lymphknotenvergrößerungen (II) und die irreversible fibrotische Umwandlung des Lungengewebes (III) /137/. Im Stadium I und II wurde bei der primär-chronischen Verlaufsform in 80 % der Fälle eine spontane Heilung beobachtet. Im Stadium III ist mit einer bleibenden Einschränkung der Lungenfunktion bis zur respiratorischen Insuffizienz und konsekutivem Cor pulmonale zu rechnen. Die Letalität beträgt ca. 4 % /138/. Bei der akuten Form, dem Löfgren-Syndrom, steht ein Erythema nodosum der Haut und fieberhafte Gelenkbeschwerden sowie uncharakteristische Symptome wie Husten und Gewichtsabnahme im Vordergrund. Die akute Erkrankung tritt mit einer Häufigkeit von 20 - 40 % auf, wobei ihre Prognose mit 90 % Spontanheilung besser ist als die der chronischen Sarkoidose.

Für die noch nicht genauer bekannte Bedeutung des Berylliums bei der Entstehung oder Begünstigung der Sarkoidose bzw. für die mögliche Fehldiagnose "Sarkoidose" bei tatsächlichen Fällen von chronischer Berylliose sprechen Untersuchungen von Egner und Stiefel /27/, die im Lungengewebe von Sarkoidose-Patienten (n = 4) Berylliumkonzentrationen fanden, die im Durchschnitt um 50 % über den Werten von sicher nicht an Sarkoidose Verstorbenen lagen. Der höchste Berylliumwert im Lungengewebe eines Sarkoidose-Patienten war dabei 200 ng/g. Die mittlere Berylliumkonzentration im Lungengewebe der Kontrollpersonen lag bei 15 ng/g.

7.5 Frage einer Bedeutung des Berylliums als Kanzerogen beim Menschen

Eine kausale Beteiligung des Berylliums an der Entstehung von Lungenkrebs beim Menschen konnte, wie bereits erwähnt, bisher nicht nachgewiesen werden.
Es ist im Zusammenhang mit der fraglichen Mitbeteiligung des Berylliums am Lungenkrebs und hier mit der hypothetischen Beteiligung immunologischer Faktoren allerdings zu den Untersuchungsergebnissen anzumerken, daß bei 4 Personen, die an einem Bronchialkarzinom (Probe 27, 35, 37) bzw. Mundbodenkarzinom (Probe 36) erkrankt waren, unter dem Durchschnitt liegende Berylliumkonzentrationen im Lungengewebe gefunden wurden.
So wie bei der chron. Berylliose, die weitgehend gesichert als überschießende immunologische Reaktion bei entsprechend sensibilisierten Personen gilt, häufig nur eine geringe Berylliumexposition nachgewiesen wurde, wäre die Entwicklung eines bösartigen Tumors bei Personen mit zu schwach reagierendem Immunsystem denkbar.
In bezug auf die kanzerogene Wirkung des Berylliums bei einigen Tieren entspräche die immunologische Reaktionsweise des Meerschweinchens der normalen Reaktion des Menschen: kutane Allergisierung möglich, evtl. Entwicklung einer chron. Berylliose, aber kein Lungenkarzinom nach Berylliumexposition.
Die Reaktionsweise von Ratten entspräche hypothetisch dem immunologischen Verhalten eines Menschen mit erhöhter Anfälligkeit für eine Krebserkrankung: keine Sensibilisierung über die Haut möglich, aber evtl. Entwicklung eines Lungenkarzinoms nach Berylliumexposition.

Um die Frage dieses hypothetischen Zusammenhangs weiter zu klären, ist in weiteren Untersuchungen die Bestimmung der immunologischen Reaktionsstärke von berylliumexponierten Personen von Interesse. So wie mit Hilfe des Lymphozytentransformationstests eine starke Sensibilisierung gegenüber Beryllium festgestellt und damit die Diagnose einer chron. Berylliose bzw. die evtl. Gefahr einer später sich entwickelnden chron. Berylliose erhärtet werden kann, wäre umgekehrt eine geringe oder nicht vorhandene Sensibilisierung auch von prognostischer Bedeutung:
Sollte sich ein Hinweis ergeben, daß bei berylliumexponierten Personen, die an Lungenkrebs erkrankt sind, das Immunsystem nicht oder nur in gerigem Maße gegen Beryllium sensibilisierbar ist, so wäre andererseits bei gesunden exponierten Personen eine Aussage über ihr evtl. Krebsrisiko denkbar.

Bei allen zukünftigen epidemiologischen Untersuchungen zur Klärung der kanzerogenen Bedeutung des Berylliums beim Menschen muß jedoch die Gegenwart anderer krebserzeugender Noxen, z.B. des 3,4-Benzpyrens im Zigarettenrauch, berücksichtigt werden.

7.6 Prüfung von Kontaminationsmöglichkeiten bei den konservierten Gewebeproben

Bei der Untersuchung sämtlicher Proben wurden die Reinheitskriterien der Spurenanalyse berücksichtigt. Da die Proben 1 - 16 mehrere Jahrzehnte alt waren, mußte eine zusätzliche Kontaminationsmöglichkeit in Erwägung gezogen werden: Es wäre denkbar, daß im Laufe der Jahrzehnte Beryllium aus dem Glasbehälter in die formalinhaltige Flüssigkeit und das Lungengewebe übergegangen war. Auch muß berücksichtigt werden, daß im Laufe der Jahre evtl. verschiedene Glasqualitäten zur Aufbewahrung der Organe verwendet wurden. Beryllium zählt zwar nicht zu den obligatorischen Bestandteilen von Glas, doch sind Verunreinigungen der Rohstoffe mit Beryllium denkbar.

Es wurden nur Organpräparate aus solchen Schaugläsern untersucht, deren luftdichter Verschluß noch unversehrt war. Die Abdichtung der Gläser war mit einer siegellackähnlichen Masse erfolgt, von der bei einigen Gläsern im Laufe der Jahre einzelne Partikel abgebrochen waren und sich im Bodensatz des Formalins wiederfanden. Dieses Siegellack wurde zwar nicht auf Beryllium untersucht, doch kommt es letztlich als Kontaminationsquelle auch nicht in Frage.

Als Hinweis, daß die hohen Berylliumwerte der alten Proben nicht durch Kontamination verursacht sind, ist das Vorkommen eines geringen Berylliumwertes (Probe 4) bei einer Organprobe zu werten, die über 40 Jahre alt war und, soweit erkennbar, unter denselben Bedingungen konserviert und gelagert worden war wie die übrigen alten Proben.

7.7 Berylliumgehalt des Formalins

Die Konservierungszeit der in Formalin eingelegten Gewebeproben betrug bei den Proben 1 - 16 mehrere Jahre, bei den Proben 17 - 37 mindestens 14 Tage.
Um die Frage zu klären, ob und in welchem Maß Beryllium aus dem Gewebe in das Formalin übergegangen war, wurde die Formalinlösung einiger Proben analysiert.
Das Formalin wurde ohne vorherige Aufbereitung direkt in das mit Zirkon vorbehandelte Graphitrohr einpipettiert und der Berylliumgehalt unter Anwendung der Additionsmethode ermittelt. Zur Aufstockung wurde eine wässerige Beryllium-Standardlösung verwendet. Die Werte des Temperaturprogramms der vorhergehenden Gewebeuntersuchungen wurden beibehalten.
Die ermittelten Berylliumkonzentrationen des Formalins in Gegenüberstellung zu den entsprechenden Gewebekonzentrationen zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6. Berylliumgehalt der zur Konservierung verwendeten Formalinlösung einiger Lungenpräparate.

Probe	Be-Gehalt des Formalins (direkt gemessen) ng/ml	Be-Gehalt des Gewebes (aufbereitet. s.S. 23) ng/g
1	2,4	15,9
2	13,2	29,1
3	15,3	17,7
4	1,6	8,0
5	3,7	13,8
6	12,0	27,6
7	10,4	43,4
9	8,9	37,9
10	11,0	22,0

Probe 17 - 26: In dem untersuchten Formalin der neuen Proben ließ sich kein Beryllium nachweisen, was auf die geringen Beryllium-Gewebekonzentrationen und vor allem wahrscheinlich auf die kurze Konservierungszeit dieser Organe zurückzuführen war.

Die unterschiedlich großen Mengen des im Laufe der mehrjährigen Konservierungszeit in das Formalin übergegangenen Berylliums können neben den unterschiedlichen Gewebekonzentrationen möglicherweise u.a. erklärt werden durch Unterschiede in der Konsistenz der Organe, ungleichmäßige Verteilung des Berylliums zwischen oberflächlichen und tiefen Organschichten, unterschiedliche Verbindungen, in denen das Beryllium im Gewebe vorgelegen haben könnte, unterschiedliche Volumen/Oberflächen-Relation der einzelnen Proben.

Die Formalinlösung der Probe 1 wurde einer genaueren Analyse unterzogen: Nach Zentrifugation wurde der Überstand und der mit Sediment angereicherte Bodensatz getrennt mit HNO_3 unter Druck aufbereitet und der Berylliumgehalt mit der Additionsmethode bestimmt. Das Ergebnis zeigte praktisch keinen Unterschied zwischen dem aufbereiteten Formalin-Überstand bzw. Bodensatz und dem direkt gemessenen Formalin (Tabelle 7).

Tabelle 7. Differenzierte Untersuchung des Formalins der Probe 1.

Formalin der Probe 1	Be-Konzentration ng/ml
- ohne vorherige Durchmischung aus der Mitte des Glasbehälters entnommen (direkt gemessen)	2,4
- nach Zentrifugation mit Sediment angereichert (aufbereitet)	2,1
- Überstand nach Zentrifugation (aufbereitet)	2,6

8. Ergebnisse aus anderen Untersuchungen

Um die in den Lungengewebsproben gefundenen Berylliumwerte in ihrer Größenordnung besser einordnen zu können, sind im folgenden verschiedene Untersuchungsergebnisse anderer Autoren wiedergegeben.

8.1 Lebens- und Genußmittel

Zorn und Diem /144/ ermittelten die Berylliumkonzentrationen in einigen Lebensmitteln und Tabakwaren (Tabelle 8).

Tabelle 8. Berylliumkonzentration in Lebensmitteln und Tabakwaren.

	Be-Gehalt in ng/g Trockensubstanz bzw. ng/Zigarette	
Knäckebrot	120	
Grüner Kopfsalat	330	
Tomaten	240	
geschälter Reis	80	
Kartoffeln	170	
Zigarettenmarke	im Rauch	im Tabak
A	74	740
B	11	680
C	21	470

8.2 Blut und Urin

Stiefel et al. /105/ fanden für den Berylliumgehalt von Blut und Urin als Normalwert bei nicht exponierten Personen (n = 10):
1,0 ± 0,4 ng/g Blut und 0,9 ± 0,5 ng/g Urin.
Demgegenüber hatten Personen, die beruflich einer Berylliumkonzentration von maximal 8 ng/m^3 für 4 - 6 h täglich ausgesetzt waren (n = 8), etwa 4fach höhere Werte. Dieselben Untersucher fanden im Urin von inhalierenden Rauchern leicht erhöhte Berylliumwerte von ca. 2 ng/g.

Lieben et al. /66/ fanden im Blut und Urin von exponierten Personen Berylliumkonzentrationen von 0,02 - 3,0 µg/l.

Nach den "Technischen Regeln für gefährliche Arbeitsstoffe" gilt für die Berylliumkonzentration im Urin die Überschreitung des Erfahrungswertes von 10 µg/l als Hinweis auf eine erhöhte Exposition /116/.

8.3 Lungengewebe

Für den Berylliumgehalt von menschlichem Lungengewebe wird von Zorn et al. /143/ als Normalwert
15,2 ± 6 ng/g Frischgewicht angegeben. Bei exponierten Personen wurden Werte bis zu 30 ng/g Lungengewebe gefunden. Bei starken Rauchern ist auf Grund des hohen Berylliumgehalts von manchen Zigaretten und der nachgewiesenen erhöhten Berylliumausscheidung im Urin auch mit einer erhöhten Berylliumkonzentration im Lungengewebe zu rechnen.

Die in den Organen eines an einem Unfall verstorbenen Mannes gefundenen Berylliumkonzentrationen zeigt Tabelle 9 /32,55/. Da die Untersuchung aus dem Jahre 1954 stammt, muß ihre analytische Genauigkeit entsprechend den damaligen technischen Möglichkeiten mit Vorbehalt betrachtet werden.

Tabelle 9. Berylliumkonzentration in den Organen eines Mannes aus einer Untersuchung im Jahre 1954.

	Be-Gehalt in ng/g Frischgewicht
Knochen	0,4
Muskel	0,06
Leber	1,0
Herz	0,4
Lunge	0,4
Niere	0,042
Magen-Darm-Kanal	4,0
Fettgewebe	0,4

Im Jahre 1980 untersuchten Kühn et al. /65,67/ den Berylliumgehalt im Lungengewebe eines Mannes (W.A.), der für ca. 3 Monate einer erhöhten Exposition in einer Beryllium-Vakuumschmelze ausgesetzt gewesen war. Der Mann war 29 Jahre nach der Exposition im Alter von 48 Jahren an den Folgen der chron. Berylliose gestorben. Das Lungengewebe wies bis zu 10fach erhöhte Berylliumwerte auf (Tabelle 10).

Tabelle 10. Berylliumkonzentration im Lungen- und Lebergewebe einer exponierten, erkrankten Person (W.A.) im Vergleich zu einer nicht exponierten Kontrollgruppe.

	W.A.	nicht exponierte Vergleichspersonen (n = 7)
	Be-Gehalt in ng/g Feuchtgewicht	
Lunge (Unterlappen - Oberlappen)	3,2 - 11,8	0,5 - 1,0
Leber	0,5	0,5
Hiluslymphknoten	38,0	0 - 12

Baumgardt et al. /8/ untersuchten im Jahre 1985 den Gehalt an verschiedenen Metallen in menschlichem Lungengewebe. Für die Berylliumkonzentration gaben sie einen Normalbereich von 2 - 30 ng/g Trockengewicht an. Die Proben waren nach der Gefriertrocknung mit Salpetersäure und Perchlorsäure aufgeschlossen und mit der Atom-Absorptions-Spektrometrie im Graphitrohr analysiert worden.

9. Präzision, Nachweisgrenze und Richtigkeit analytischer Methoden der Berylliumbestimmung

Es gibt zahlreiche Möglichkeiten der quantitativen Bestimmung metallischer Elemente. Unter anderem sind dies die klassischen gewichts- und maßanalytischen Verfahren, die Colorimetrie, Polarographie und Fluorometrie, die Emissionsspektrographie, Röntgenfluoreszenz- und Neutronen-Aktivierungs-Analyse sowie die Gaschromatographie.
Für den Berylliumnachweis kommen bei den in organischer Matrix zu erwartenden niedrigen Konzentrationen folgende Methoden aus der Sicht der Nachweisgrenze in Frage:
die flammenlose Atom-Absorptions-Spektrometrie /104/,
die Fluoreszenzspektrometrie /112/,
der Derivatnachweis im Gaschromatograph /54/ und die Neutronen-Aktivierungs-Analyse.
Genau und praktikabel ist die Atom-Absorptions-Spektrometrie. Außer ihrer relativ geringen Störanfälligkeit, hohen Empfindlichkeit und guten Präzision zeichnet sich diese Methode auch dadurch aus, daß sie relativ einfach und kostengünstig in einem breiten Einsatzbereich durchzuführen ist.
Einen Überblick über die Nachweisgrenzen der verschiedenen Verfahren am Beispiel des Berylliums gibt Tabelle 11 /76/.

Tabelle 11. Nachweisgrenzen verschiedener Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Beryllium.

Analysenverfahren	Nachweisgrenze in ng
Colorimetrie (unspezifisch)	4,0
Fluorometrie (unspezifisch)	0,02
Spektralanalyse	0,1
Neutronen-Aktivierungs-Analyse	1200,0
Gaschromatographie mit Berylliumderivatisierung	0,004
Atomabsorption in der Flamme	0,8
flammenlose Atomabsorption im zirkoniumbeschichteten Graphitrohr /10/	0,02

10. Grundlagen der Atom-Absorptions-Spektroskopie

Für eine korrekte Durchführung der Analysen mittels der flammenlosen Atom-Absorptions-Spektroskopie war das Studium und Einüben dieser Methodik erforderlich /127,129/.

Atome absorbieren im Grundzustand Licht einer bestimmten Wellenlänge, wie Kirchhoff und Bunsen erstmals feststellten /56 - 59/. Darauf aufbauend entwickelten 1955 Alkemade /5,6/ und Walsh /126/ die Methode der Atom-Absorptions-Spektroskopie.

10.1 Aufbau eines Atom-Absorptions-Spektrophotometers

Die wesentlichen Bestandteile eines Atom-Absorptions-Spektrophotometers zeigt Abbildung 3.

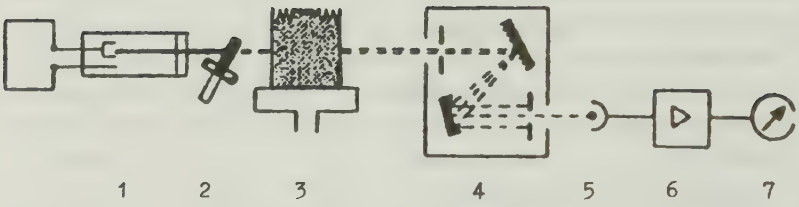

Abb. 3. Aufbau eines Atom-Absorptions-Spektrophotometers /129/.

1 Lichtquelle (Hohlkathodenlampe)

2 rotierende Sektorblende

3 Atomisierungseinrichtung (Flamme oder Graphitrohrküvette)

4 Monochromator

5 Detektor

6 Verstärker

7 Anzeigegerät

Die wesentlichen Bestandteile eines Atom-Absorptions-Spektrophotometers sind in der Reihenfolge ihrer Anordnung:

- Lichtquelle z.B. als Hohlkathodenlampe mit dem jeweiligen Linienspektrum des zu bestimmenden Elements,
- Einrichtung zur Modulation des Lichtstrahls, im allgemeinen eine rotierende Sektorblende,
- Atomisierungseinrichtung (Flamme oder Graphitrohr), in der die Probe durch thermische Dissoziation in ihre Atome überführt wird,
- Monochromator (Gitter), der aus dem Spektrum die für das betreffende Element typische Wellenlänge (Resonanzlinie) auszusondern erlaubt, bei der die Absorptionsmessung durchgeführt wird,
- Lichtdetektor (Sekundär-Elektronen-Vervielfacher) mit nachgeschaltetem Selektivverstärker, der auf die Modulationsfrequenz der rotierenden Sektorblende abgestimmt ist,
- Anzeigegerät, das die Lichtschwächung durch atomare Absorption in Form der Extinktion anzeigt.

10.2 Spezifität und Selektivität der Atom-Absorptions-Spektroskopie

Die Richtigkeit der Atom-Absorptions-Spektroskopie, d.h. wie nahe das Meßergebnis dem tatsächlichen Konzentrationswert des zu bestimmenden Elements kommt, wird durch systematische Fehler beeinflußt. Darunter versteht man Fehler, die in der Meßmethode selbst begründet sind. Die Größe des systematischen Fehlers wird u.a. durch die Qualitätsmerkmale Spezifität und Selektivität der Meßmethode bestimmt.

Spezifität

Für die Atom-Absorptions-Spektroskopie besagt die Spezifität, wieweit ausschließlich die Atome des gesuchten Elements Licht absorbieren.
Die hohe Spezifität der AAS wird erreicht durch die Verwendung einer Lichtquelle, die nur das Linienspektrum des zu bestimmenden Elements aussendet. Die Breite dieser Emissionslinien muß so gering wie möglich sein, damit Atome anderer Elemente, deren Resonanzlinien in enger Nachbarschaft liegen, nicht gleichfalls angeregt werden. Diese Bedingung erfüllt besonders gut eine Hohlkathodenlampe (HKL), bei der die Kathode aus dem zu bestimmenden Element besteht. Zusätzlich wird noch das Spektrum des Füllgases (Neon oder Argon) ausgesendet. Da der Abstand zwischen den Spektrallinien dieser Füllgase und den interessierenden Elementen meist groß ist, eliminiert der dem Lichtdetektor vorgeschaltete Gitter-Monochromator die Emissionslinie des Füllgases vollständig.

Selektivität

Die Selektivität der Atom-Absorptions-Spektroskopie gibt Auskunft darüber, in welchem Maß ausschließlich die spezifische Absorption durch die Atome des zu bestimmenden Elements gemessen wird.
Die Atom-Absorptions-Spektroskopie besitzt eine hohe Selektivität, die durch die Modulation der Lichtquelle erreicht wird. Der dem Detektor nachgeschaltete Selektivverstärker ist auf diese Modulationsfrequenz abgestimmt, sodaß nur das modulierte elementspezifische Licht der HKL gemessen wird. Licht, das bei der Atomisierung von Begleitelementen, von der Flamme oder dem glühenden Graphitrohr ausgesendet wird und daher nicht moduliert ist, d.h. eine unspezifische Strahlung, wird durch den Verstärker herausgefiltert.
Auf diese Weise vermeidet man spektrale Interferenzen, die entstehen können, wenn die Wellenlänge der unspezifischen Strahlung sich nur wenig von der des zu bestimmenden Elementes unterscheidet. Der dem Detektor vorgeschaltete Gitter-Monochromator könnte dann auf Grund seines bestimmten nicht zu unterschreitenden Auflösungsvermögens (Spaltbreite) diese unspezifische Wellenlänge nicht aus dem Spektrum beseitigen. Das unspezifische Licht träfe dann ebenfalls auf den Detektor und würde das Meßergebnis verfälschen.

10.3 Meßprinzip der AAS

Durch thermische Dissoziation wird das in der Probe enthaltene zu bestimmende Element atomisiert. Das Prinzip der AAS beruht nun darauf, daß diese Atome in der Lage sind, Licht "ihrer" Wellenlänge zu absorbieren, d.h. Licht, das diese Atome im angeregten Zustand auch aussenden. Diese Anregung kann elektrisch in einer Hohlkathodenlampe erfolgen, deren elementspezifisches Licht durch die atomisierte Probe geleitet wird. Die Lichtabsorption bzw. die meßbare Schwächung des durch die atomisierte Probe hindurchgehenden Lichtstrahls ist proportional der Anzahl der absorptionsbereiten, d.h. im energetischen Grundzustand sich befindenden Atome des zu bestimmenden Elements.
Dazu müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:
1.) Das in der Probe zu bestimmende Element muß möglichst weitgehend in Atome überführt sein.

- Diese Forderung ist z.B. erfüllt, wenn es gelingt, bei der Atomisierung im Graphitrohr die Werte für Temperatur und Zeit entsprechend groß zu wählen.

2.) Der zeitliche Aufenthalt der Atome im Lichtstrahl und damit die Möglichkeit, Licht zu absorbieren, muß im Mittel bei jeder Messung gleich groß sein.

- Dies wird u.a. gewährleistet durch eine konstante Brenngeschwindigkeit der Flammengase bzw. eine konstante Strömung des Schutzgases im Innern des Graphitrohrs.

3.) Die Zahl der pro Zeiteinheit entstandenen Atome und damit die Lichtabsorption muß so groß sein, daß sie mit genügender Genauigkeit gemessen werden kann.

- Um diese ausreichend große Anzahl von Atomen zu erfassen, ist im Graphitrohr u.U. ein "Gasstop" des Schutzgases nötig.

Die Grenzen der Meßbarkeit der Absorption sind durch unvermeidbare Störfaktoren, das Grundrauschen, bedingt, das die Meßeffekte des Detektors überlagert. Man ist bestrebt, auf gut meßbare Werte zu kommen, indem man versucht, sehr viele Atome gleichzeitig aus der Probe freizusetzen.

Durch Erfüllung dieser Bedingungen ist erreicht, daß die spezifische Lichtabsorption proportional der Menge bzw. der Konzentration des zu bestimmenden Elements in der atomisierten Probe ist.
Bis zu einer höheren Konzentration ist dieses Verhältnis linear und es gilt das Lambert-Beersche-Gesetz, wonach allgemein für die Intensität des Lichts vor (I_o) bzw. hinter (I_D) den absorbierenden Teilchen gilt:

$$I_D = I_o \cdot 10^{-k \cdot c \cdot d}$$

In anderer Form: $$\log \frac{I_o}{I_D} = k \cdot c \cdot d = E$$

Die Extinktion (optische Dichte) E ist also proportional der Konzentration c des absorbierenden Stoffes und der durchstrahlten Schichtdicke d .
Bei der Atom-Absorptions-Spektroskopie ist unter der durchstrahlten Schichtdicke der Durchmesser der "Atomisierungswolke" bzw. die Geometrie der Flamme oder des Graphitrohr-Inneren zu verstehen. Diese Werte sind bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen, insbesondere definierten Abmessungen des Brennerschlitzes und des Graphitrohres sowie gleichbleibendem Volumenfluß des Brenn- bzw. Schutzgases, konstant, sodaß die Extinktion eine lineare Funktion der atomaren Konzentration ist.

10.4 Verschiedene Möglichkeiten der Atomisierung

Es kommen zwei unterschiedliche Atomisierungsmethoden zur Anwendung: die Flamme als Atomisierungsmittel und die flammenlose Atomisierung im Graphitrohr.

10.4.1 Atomisierung in der Flamme

Bei dieser Methode wird die Probe über einen Zerstäuber angesaugt und fein verteilt mit einem Brenngas und einem Oxidans vermischt in der Flamme atomisiert.

Einer der Vorteile dieser Methode ist ihre hohe Präzision. Dies wird vor allem durch die große Stabilität der laminaren Strömung der Flamme erreicht. Ihre hohe Temperatur (ca. 2700° C) und besonders gute reduzierende Eigenschaften der am meisten verwendeten Lachgas/Acetylen-Flamme bewirken außerdem eine nahezu vollständige Atomisierung der Probe.

Die Atomisierung, d.h. die Einstellung eines Gleichgewichts zwischen absorptionsfähigen Atomen einerseits und Molekülen, angeregten und ionisierten Atomen andererseits, erfolgt sehr schnell (ca. 1 s). Dadurch ist eine hohe Probenfrequenz von 300 - 400 Messungen/h möglich.

Ein Nachteil der Flamme ist das verstärkte Auftreten von chemischen Interferenzen. Darunter versteht man die Bildung von unterschiedlich stabilen Verbindungen des zu bestimmenden Elements mit anderen Elementen, die in der Probe oder dem Brenngas vorhanden sind. Dabei ist es möglich, daß sich diese Verbindung auf Grund ihrer leichten Verdampfbarkeit, ohne atomisiert zu werden, verflüchtigt. Meistens bildet sich aber eine stabilere

Verbindung, wodurch im Vergleich zu einer reinen, nur das zu bestimmende Element enthaltenden, wäßrigen Lösung die Einstellung des Atomisierungsgleichgewichts verzögert wird. Es ist sogar möglich, daß die Verbindung bei der vorhandenen Temperatur noch nicht atomisierbar ist. Dieser Umstand wird dadurch noch begünstigt, daß durch die hohe Geschwindigkeit der Brenngase (150 - 200 cm/s) diese Verbindungen sehr schnell aus dem Reaktionsbereich der Flamme entfernt werden. Dort wäre bei längerer Verweildauer eine Atomisierung evtl. noch möglich.
In jedem Fall wird das Ausmaß der Atomisierung und damit die Absorptionsmessung in Abhängigkeit von vorhandenen Begleitstoffen beeinflußt.

Um die Beeinflussung des Meßergebnisses durch solche chemische Interferenzen zu vermeiden, kann man der Probenlösung Substanzen zufügen, die die Bildung von störenden Verbindungen verhindern (Matrixmodifier). Dies geschieht meist auf Grund des Massenwirkungsgesetzes. So kann z.B. bei der Bestimmung von Calcium durch Zugabe von Lanthan oder Strontium die mögliche Bildung des schwer dissoziierbaren Calciumpyrophosphats verhindert werden. Ebenso ist es möglich, durch Zugabe eines Komplexbildners wie z.B. EDTA das Calcium daran zu hindern, schwer atomisierbare Verbindungen einzugehen.

Wird die Atomisierung bei hoher Temperatur durchgeführt (Lachgas/Acetylen-Flamme/134/),so können auch schwer dissoziierbare Verbindungen gespalten und dadurch die Auswirkung chemischer Interferenzen weitgehend beseitigt werden. Dies trifft auch für die Graphitrohrküvette zu.

Andererseits bringt eine höhere Flammentemperatur die Gefahr einer Ionisations-Interferenz mit sich:
Nur die im energetischen Grundzustand befindlichen Atome, die bei der thermischen Dissoziation entstehen, sind in der Lage, das Licht der Hohlkathodenlampe bei der spezifischen Wellenlänge zu absorbieren. Bei weiterer Energiezufuhr, wie es der höheren Flammentemperatur entspricht, entstehen Atome höherer Anregungszustände und Ionen. Beide haben Resonanzlinien, die sich von denen, die die Atome im Grundzustand aufweisen, unterscheiden. Sie stehen somit für die Absorptionsmessung nicht zur Verfügung. Die Zahl solcher angeregter Atome ist gering und praktisch immer vernachlässigbar /127/.
Dagegen kann besonders bei den Alkali- und Erdalkalielementen durch Bildung von Ionen die Zahl der absorptionsbereiten Atome und damit die Empfindlichkeit der Messung nennenswert vermindert werden.

Diese Ionisations-Interferenz läßt sich weitgehend verhindern, wenn der Probe ein leichter ionisierbares Element wie z.B. Kalium oder Caesium in hoher Konzentration (1 g/l) zugegeben wird. Die bei der Ionisation dieser Begleitelemente große Anzahl von freigesetzten Elektronen verhindert die Ionisation des zu bestimmenden Elements entsprechend dem Massenwirkungsgesetz.

Darüberhinaus ist die Empfindlichkeit der AAS mit der Flamme durch die Ansaugrate des Zerstäubers und die kurze Verweildauer (ca. 5 ms/10 /) der Atome in der Flamme begrenzt. Damit ist die Zahl der absorbierten Lichtquanten je Atom viel kleiner als bei der flammenlosen AAS mit längerer Verweildauer, wodurch die Lichtabschwächung pro Atom entsprechend geringer ist.
So liegt z.B. die Nachweisgrenze für Beryllium im Urin bei 3 ng/ml /104/. Für die flammenlose Atomisierung im Graphitrohr beträgt hierbei die absolute Nachweisgrenze

0,02 ng /130 /, was bei einem noch praktikablen Pipettiervolumen von 100 µl einer Konzentration von 0,2 ng/ml entspricht.
Bei der Untersuchung mittels der Flamme muß ein Mindestvolumen für die Zerstäubung vorhanden sein. Die noch nachweisbare Mindestkonzentration beträgt je nach Element 1 - 100 µg/l. Steht ein größeres Probenvolumen zur Verfügung, so läßt sich zwar die erforderliche Mindestkonzentration durch verschiedene Anreicherungsverfahren wie Einengen und Extrahieren erreichen, doch ist damit neben dem höheren Zeitaufwand meist eine höhere Fehlerquote durch Verlust und Kontamination verbunden.

Bei der Flammen-AAS sind weiterhin Störungen auf Grund physikalischer Interferenzen je nach Eigenschaft der Probe möglich. Bei flüssigen Proben ist eine feine Zerstäubung und Vermischung mit dem Brenngas nötig. Hierbei hat die Viskosität,Dichte und Oberflächenspannung der Probenlösung Einfluß auf die pro Zeiteinheit in die Flamme versprühte Probenmenge.

10.4.2 Flammenlose Atomisierung im Graphitrohr

Bei dieser von Massmann /72/ entwickelten Methode befindet sich im Strahlengang des Atom-Absorptions-Spektrophotometers ein Graphitrohr, das elektrisch über seinen Eigenwiderstand bis zum Glühen aufheizbar ist. In dieses Graphitrohr wird die Probe eingebracht und atomisiert.

Ein Vorteil dieser Methode ist vor allem die Möglichkeit einer thermischen Vorbehandlung der Probe. Die Temperatur des Graphitrohres kann über die angelegte Spannung kontinuierlich bis über 2700° C gesteigert werden. Dabei werden die Siedepunkte von evtl.

vorhandenen störenden Begleitverbindungen erreicht, wodurch diese vor der Atomisierung aus der Probe entfernt werden. Es besteht allerdings die Gefahr, daß während dieser thermischen Vorbehandlung auch Atome des zu bestimmenden Elements in Form von leichter flüchtigen Verbindungen entweichen. Durch geeignete Wahl der stufenweisen Temperaturerhöhung lassen sich jedoch diese Verluste vermeiden.

Durch die thermische Vorbehandlung der Probe können chemische Interferenzen größtenteils verhindert werden, insbesondere weil die thermische Dissoziation in der inerten Atmosphäre eines Schutzgases geschieht. Dabei handelt es sich meist um Argon oder Stickstoff, von dem das Graphitrohr von allen Seiten umströmt wird, um ein Verbrennen bei der hohen Temperatur zu verhindern.
So umspült bei der Graphitrohrküvette HGA-74 von Perkin-Elmer eine externe Gasströmung das Graphitrohr von außen mit einem Volumenfluß von 900 ml/min, während die Strömung im Innern des Graphitrohrs 300 ml/min beträgt. Um einen möglichst langen Aufenthalt der Atome im Lichtstrahl und damit ein hohes Nachweisvermögen zu erreichen, kann während der Atomisierung die interne Gasströmung auf Werte zwischen 150 und 0 ml/min gedrosselt werden (Miniflow bzw. Gasstop).
Die Atome verflüchtigen sich beim Gasstop nur infolge ihrer thermischen Bewegung bzw. der Sogwirkung der von außen zuströmenden Luft durch die Pipettieröffnung aus dem Graphitrohr. Die Reproduzierbarkeit der Messungen wird dadurch etwas schlechter, als wenn man eine geringe Gasströmung (z.B. 50 ml/min Miniflow) während der Atomisierung beibehält. Je nach Flow-Bedingungen führt die davon abhängige kürzere Aufenthaltsdauer der Atome im Lichtstrahlbereich zu einer geringeren Empfindlichkeit der Messung.

Die physikalischen Eigenschaften der Probe haben einen geringeren Einfluß auf die Atomisierung im Graphitrohr, als dies in der Flamme der Fall ist. Dadurch ist es auch möglich, feste Proben direkt in das Graphitrohr einzugeben /99/. Dabei muß die Probe allerdings äußerst homogen sein, um repräsentative Meßergebnisse zu erhalten. Meist wird die Probe in flüssiger Form in das Graphitrohr einpipettiert.

Die Empfindlichkeit im Graphitrohr ist im allgemeinen um 2 - 3 Zehnerpotenzen besser, weil während der Atomisierung die Atome länger im Strahlengang erhalten bleiben (bis zu mehreren Sekunden) als bei der Atomisierung in der Flamme. Es ist somit eine mehrmalige Lichtabsorption pro Atom möglich. Für dieselbe Lichtabschwächung müssen im Vergleich zur Flamme weniger Atome des zu bestimmenden Elements vorhanden sein. Das bedeutet eine bis zu 1000fach gesteigerte Empfindlichkeit durch die flammenlose Atomisierung. Dadurch sind Bestimmungen im Bereich der Ultra-Spurenanalyse bis 1 pg/ml möglich /130/.

Ein weiterer Vorzug ist ein kleines Probenvolumen. In das Graphitrohr können beliebig kleine, allerdings durch die Pipettiergenauigkeit begrenzte Probenvolumina eingegeben und nachgewiesen werden, sofern die Mindestmenge des nachzuweisenden Elements darin enthalten ist. Andererseits kann bei zu geringer Konzentration das Volumen bis auf ca. 100 µl gesteigert werden, um die absolute Mindestanzahl an Atomen zu erreichen.

Ein Nachteil der flammenlosen Atomisierung, der speziell bei organischer Probenmatrix in Erscheinung tritt, kann die Bildung von schwer zersetzbaren Carbiden im Graphitrohr sein. Diese erfolgt trotz vorhandener Schutzgasströmung bzw. während ihrer Unterbrechung innerhalb des

Atomisierungsintervalls und führt zu einer gewissen Empfindlichkeitserniedrigung gegenüber rein wässerigen Probenlösungen /40/.

Die Beeinflussung des Atomisierungssignals durch die Anwesenheit von Fremdionen im Graphitrohr wurde für wässerige und benzolische Berylliumlösungen genauer untersucht /104/. Insbesondere erfolgte durch Calcium- und Fluorionen eine Verringerung des Atomisierungspeaks um 50 % bzw. 90 %, während Magnesiumionen eine Signalerhöhung um ca. 30 % bewirkten /31/. Die Beeinflussung durch andere Ionen war geringer und betrug maximal ± 10 %. Dabei war für das Ausmaß der Störung weniger die Konzentration als die Art der Ionen von Bedeutung.

Einfluß der Säurekonzentration in der Probenlösung auf das Atomisierungssignal

Erhöhte Salzkonzentrationen führen in der Regel zu einer Erniedrigung des Absorptionssignals /77/. Als Einfluß der Säurekonzentration auf die Höhe des Atomisierungspeaks ist bei bis zu 2-n-Säuren mit zunehmender Signalerniedrigung gegenüber einer wässerigen Probenlösung zu rechnen. Bei höheren Konzentrationen nimmt die Empfindlichkeitserniedrigung nicht weiter zu. Gewisse Abweichungen davon bestehen in Abhängigkeit von der Art der Säure und des zu bestimmenden Elements /40/.

Eine Beeinflussung des Atomisierungssignals durch Fremdionen läßt sich zum großen Teil beseitigen durch die Isolierung des Berylliums bzw. Maskierung der Ionen mit EDTA innerhalb eines Verbundverfahrens /104/ oder durch Anwendung der Additionsmethode.

Ein weiterer wichtiger Nachteil der flammenlosen AAS, der in der Flamme nur selten bei hochkonzentrierten Lösungen zu beachten ist, ist die Beeinflussung des Meßergebnisses durch unspezifische Lichtverluste /128/. Diese treten auf, wenn bei der Atomisierung kleine feste oder flüssige Teilchen der Probe oder größere Molekülansammlungen in den Strahlengang gelangen und das Licht gestreut bzw. von den Molekülen absorbiert wird. Dies geschieht häufig bei einer Matrix, die organische Bestandteile. Schwefelsäure oder andere leichtflüchtige Verbindungen enthält.

Die Beseitigung der unspezifischen Lichtverluste gelingt nur mit Hilfe der Untergrundkompensation /53, 61,127/. Dabei wird rasch abwechselnd das Licht der Hohlkathodenlampe (HKL) und das einer Deuteriumlampe bzw. einer Halogenlampe bei Messungen mit Wellenlängen über 350 nm durch das Graphitrohr geleitet. Die HKL sendet nur Licht mit der für das jeweilige Element typischen Wellenlänge aus. Dagegen besteht die Strahlung der Deuteriumlampe aus einem breiten Frequenzband, das praktisch zu gleichen Anteilen neben der elementspezifischen Wellenlänge noch mehrere benachbarte Wellenlängen enthält. Die spezifische Absorption bei der typischen Wellenlänge durch die Atome des zu bestimmenden Elements schwächt die Intensität der HKL folglich weit mehr als die Intensität der Deuteriumlampe. Unspezifische Absorptionen, die dagegen alle Wellenlängen in gleichem Maß betreffen, verringern die Intensität von HKL und Deuteriumlampe in demselben Umfang, sodaß das Intensitätsverhältnis HKL zu Deuteriumlampe gleich bleibt. Da sich dies Intensitätsverhältnis bei spezifischer Absorption von dem bei unspezifischer Absorption unterscheidet, kann der Untergrundkompensator auf elektronischem Weg unspezifische Lichtverluste erkennen und ihren Einfluß auf das Meßergebnis weitgehend beseitigen.

11. Grundlagen für die Durchführung der quantitativen Analyse von Beryllium in menschlichem Gewebe

11.1 Kontaminationsprobleme in der Spurenanalyse

Die große Gefahr bei jeder Analyse im Spurenbereich ist die Verfälschung der Ergebnisse einerseits durch Verluste infolge von Adsorption und Verflüchtigung, andererseits durch Kontamination.
Neben einem staubarmen Laboratorium müssen die verwendeten Chemikalien von höchster Reinheit sein (pro analysi, Suprapur^{R}). Sämtliche Gefäße und Geräte, die mit der Probe in Berührung kommen, müssen absolut frei von jeglicher insbesondere metallischer Verunreinigung sein. Durch Fremdatome, die aus der Gefäßwand in Lösung gehen können, bzw. durch Adsorptions- und Desorptionsvorgänge von Ionen an der Gefäßwand kann eine Kontamination, seltener ein Verlust, verursacht werden.
Auf diese Adsorption haben verschiedene Faktoren einen Einfluß. Dazu gehören u.a. das Gefäßmaterial, die Vorbehandlung des Gefäßes (Präkonditionierung), Konzentration und pH-Wert der Lösung sowie Kontaktzeit und Temperatur.

11.1.1 Gefäßmaterial

Die hier speziell interessierende Adsorption von Beryllium an verschiedene Materialien wurde genauer untersucht. Die von Kaiser et al. /54/ ermittelten Adsorptionswerte innerhalb von 24 h bei einer leicht saueren, wäßrigen Lösung (pH 6) und einem Berylliumgehalt von 1 ng/ml zeigt Tabelle 12.

Tabelle 12. Adsorption von Beryllium an verschiedene Materialien innerhalb von 24 Stunden.

Geräteglas (Fa. Schott, Mainz)	3 %
Quarzglas	0,5 - 1,0 %
Polyäthylen (PE)	0,5 %
Polytetrafluoräthylen (PTFE, Teflon^{R})	weniger als 0,5 %

Aus Tab. 12 ist zu erkennen, daß normales Glas ungeeignet ist, während Quarzglas, Polyäthylen (PE) und besonders Polytetrafluoräthylen (PTFE) die Forderung nach möglichst geringer Adsorption am besten erfüllen. Bei den Untersuchungen wurden daher Gefäße verschiedener Größe aus PE und PTFE verwendet. Die Wahl im einzelnen Fall mußte sich sowohl nach den jeweiligen Anforderungen richten wie z.B. hohe Temperaturbeständigkeit bei der Aufbereitung der Proben als auch die gegebenen finanziellen Möglichkeiten berücksichtigen. (Gefäße aus PE sind erheblich billiger als solche aus PTFE.)

11.1.2 Vorbehandlung der Gefäße

Die Vorbehandlung der Gefäße erfolgt zur Reinigung, insbesondere zur Entfernung jeglicher Metallspuren, und zur Präkonditionierung. Durch diese Präkonditionierung wird die Oberfläche der Gefäße im molekularen Bereich mit den Ionen der Reinigungsflüssigkeit (z.B. H^+, NO_3^-, OH^-) besetzt, sodaß eine Adsorption von Metallionen aus der Proben- oder Eichlösung auf ein Minimum reduziert wird.

Die Vorbehandlung erforderte bei den PTFE-Gefäßen einen größeren Aufwand, da einerseits in diesen Gefäßen die Druckaufbereitung der organischen Proben erfolgte, andererseits aber diese Gefäße mehrmals verwendet wurden. Ihre Vorbehandlung erfolgte in 3 Stufen:

1.) Auskochen in 65proz. HNO_3 während 2 h
2.) Ausdämpfen über 65proz. siedender HNO_3 für 4 h
3.) Ausdämpfen über siedendem Aqua bidest. für 12 h

Das Ausdämpfen erfolgte in einer speziellen Glasapparatur (Abbildung 4, Fa. Hans Kürner, 6451 Neuberg).

Die Gefäße aus Niederdruck-Polyäthylen (Hostalen^R, 20 ml Inhalt) wurden über schwach siedender HNO_3 und siedendem Aqua bidest. ausgedämpft, entsprechend der 2. und 3. Stufe. Dies mußte wegen ihrer geringeren Hitzebeständigkeit (max. 120° C) sehr behutsam erfolgen. Die auf diese Weise präkonditionierten PE-Gefäße dienten zur Aufbewahrung der organischen Proben.

Für die kurzfristiger eingesetzten PE-Reagenzgefäße (1,5 ml Inhalt, Fa. Eppendorf) erfolgte die Vorbehandlung durch Aufbewahrung über mehrere Stunden in 65proz. HNO_3. Anschließend wurden die Gefäße mit bidestilliertem Wasser gespült. In ihnen wurde die Aufstockung im Rahmen der Additionsmethode durchgeführt. Sämtliche PE-Gefäße wurden nur einmal verwendet.

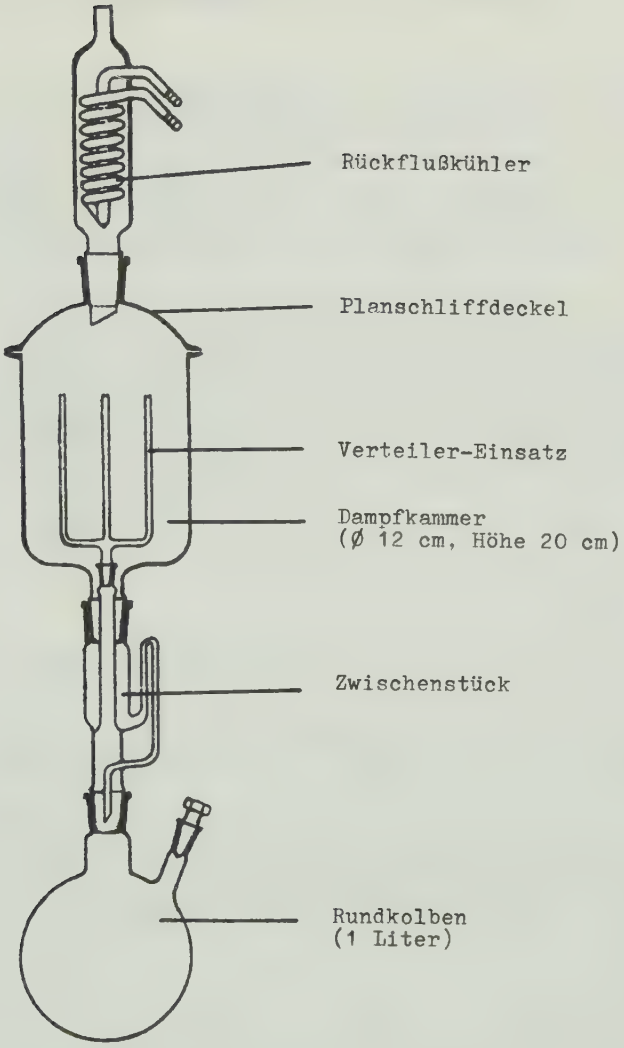

Abb. 4. Ausdämpf-Apparatur.
Abmessungen der Gesamtapparatur:
15 x 100 x 30 cm

11.1.3 Herstellung der Beryllium-Standardlösungen

Kaiser at al. /54/ und andere Autoren konnten zeigen, daß die Verluste an Beryllium durch Adsorption an die Gefäßwand bei einer bis zu 10^{-4} molaren Berylliumlösung vernachlässigbar gering sind. Bei geringerem Berylliumgehalt nehmen die relativen Adsorptionsverluste zu, sodaß Proben- und Eichlösungen mit diesen geringen Konzentrationen nur kurze Zeit, max. 24 h, haltbar sind. Eine leicht saure Standardlösung mit einer Berylliumkonzentration von 1 mg/l läßt sich somit ca. 3 Monate in einer konditionierten PE-Flasche ohne meßbaren Verlust aufbewahren. Stärker verdünnte Gebrauchslösungen müssen jeweils frisch hergestellt werden.

Aus einer Berylliumstammlösung (Titrisol^{R}, Fa. Merck) mit einer Konzentration von 1 g/l wurde durch vorschriftsmäßiges Verdünnen mit Aqua bidest. die haltbare Gebrauchslösung mit 1 mg Be/l hergestellt.
Um Konzentrationsverluste durch Hydrolyse und Adsorptionsverluste gering zu halten, muß mit schwach sauren Lösungen gearbeitet werden. Daher wurde die Gebrauchslösung mit 5 ml HNO_3 (65proz., Suprapur) pro Liter angesäuert.
Die bei Bedarf jeweils frisch hergestellten Gebrauchslösungen geringerer Konzentration, mit denen die Aufstockung der Proben erfolgte, wurden durch Verdünnen mit 65proz. HNO_3 aus der haltbaren Standardlösung erstellt.

11.1.4 Aufbewahrungsbedingungen der Gewebeproben

Die Gewebeproben wurden in den verschließbaren PE-Gefäßen (20 ml) in einer 3,5proz. Formaldehydlösung über längere Zeit aufbewahrt. Die Frage einer Diffusion von Beryllium in das Formalin und einer Adsorption an die PE-Gefäßwand wurde geprüft und bei der praktizierten Aufbewahrungszeit als zu vernachlässigend gefunden (s.S. 38).
Die Zeit von der Aufbereitung der Probe über die sich anschließende Aufstockung innerhalb des Additionsverfahrens bis zur Messung am AAS-Gerät betrug maximal 24 h. Sämtliche Proben und Probenlösungen sowie die haltbaren Beryllium-Standardlösungen wurden im Kühlschrank bei ca. + 4° C aufbewahrt, um den adsorptions- und hydrolysebegünstigenden Einfluß höherer Temperatur auszuschließen.

11.1.5 Blindwertkontrolle

Die Salpetersäure, die für die Aufbereitung der Proben und die Herstellung der Standardlösungen verwendet wurde, und das Aqua bidest., mit dem die haltbare Beryllium-Stammlösung hergestellt wurde, wurden auf ihren Berylliumgehalt hin überprüft. Ebenso das Formalin, in das die frischen Gewebeproben (Probe 17 - 37) für ca. 14 Tage gelegt wurden.
Bei den konditionierten PTFE-Gefäßen erfolgte die Blindwertkontrolle (Stichproben), indem der Aufbereitungsschritt mit HNO_3 im Druckaufschlußbehälter ohne Probe durchlaufen wurde und anschließend die Säure auf Beryllium untersucht wurde.

Die Blindwerte der PE-Gefäße (Stichproben) und Einmal-Pipettenspitzen wurden durch mehrstündiges Einlegen in HNO_3 und anschließendes Überprüfen der Säure kontrolliert.
Außerdem wurden auf evtl. Kontamination mit Beryllium untersucht: die Pinzette und das Skalpell, beide aus Edelstahl, mit denen die Gewebeproben aus den Organen entnommen wurden und das Filterpapier, mit dem das überschüssige Formalin von den Gewebeteilchen abgetupft wurde. Untersucht wurde wiederum die Salpetersäure, in die die Pinzette, Skalpellklinge und das Papier 3 - 5 Minuten getaucht worden waren. Dies entsprach mehr als der maximalen Kontaktzeit während der Probennahme bzw. des Abtupfens.

Bei allen Kontrollmessungen ergab sich eine Extinktion, die unter 0,01 lag. Eine grobe Verfälschung der nach der Additionsmethode zeichnerisch ermittelten Meßergebnisse durch hohe Berylliumblindwerte konnte somit ausgeschlossen werden.

11.2 Organisches Untersuchungsmaterial

Bei dem Untersuchungsmaterial handelte es sich um Proben aus menschlichem Lungen- und Lebergewebe. Diese Proben stammten zum einen Teil von Organen, die vor Jahrzehnten zur Konservierung in Gläser mit Formalin eingelegt worden waren. Den konservierten Organen wurde ein kleines Stück (ca. 3 bis 5 cm^3) mit Skalpell und Pinzette entnommen und zunächst zusammen mit Formalinlösung aus dem jeweiligen Glasbehälter in ein verschließbares PE-Fläschchen (20 ml) gebracht. In dieser Form wurden die Proben transportiert und bis zur Aufbereitung im Kühlschrank gelagert.

Zum anderen Teil wurde frisches Lungengewebe aus Obduktionsmaterial verwendet. Dazu wurden gleichgroße Proben entnommen und zunächst für ca. 2 - 4 Wochen in Formalin gelegt. Die Entnahme der Proben erfolgte in allen Fällen aus peripheren Organbereichen.

11.2.1 Einwiegen der Probe

Auf einer Präzisionswaage wurde jeweils ein Gewebeteilchen von 0,3 - 0,5 g Gewicht in einen konditionierten PTFE-Aufschlußbehälter eingewogen. Die Probe wurde vorher mit saugfähigem Filterpapier leicht abgetupft, um anhaftendes Formalin zu entfernen. Es muß darauf hingewiesen werden, daß dies Vorgehen nicht genau reproduzierbar war. Das Gewicht der Proben ist somit zwischen dem Feuchtgewicht und dem Trockengewicht von in Formalin konserviertem Gewebe einzuordnen. Die genaue Korrelation dieses Gewichts mit dem Gewicht von frisch entnommenem Gewebe bzw. dem in anderen Untersuchungen häufig verwendeten Trockengewicht wurde nicht untersucht. Nach Kühn /65/ ist der Berylliumgehalt im Trockengewicht ca. 5 - 6 mal so hoch wie im Naßgewicht.
Nach ICRP-23: Report of Task Group on Reference Man /46/ beträgt der Umrechnungsfaktor für Lungengewebe 4,5 und für Lebergewebe 3,6.
Beim Vergleich der ermittelten Berylliumwerte mit anderen Untersuchungsergebnissen muß dies berücksichtigt werden.

11.2.2 Aufbereitung

Der Aufschluß (Mineralisierung) der Gewebeprobe ist aus zwei Gründen notwendig:

1.) Die Probe muß aus der festen Form in eine homogene Lösung übergeführt werden, um reproduzierbare Mengen in das Graphitrohr einpipettieren zu können.

2.) Das Beryllium muß aus komplexen Eiweißverbindungen freigesetzt werden, um eine gleichförmige Atomisierung sicherzustellen.

Damit dieser Aufschluß möglichst vollständig erfolgt, wird er mit konzentrierter Salpetersäure als Aufschlußreagens unter hohem Druck und relativ hoher Temperatur durchgeführt /62/. Die Mineralisierung findet in einem Gefäß mit 10 ml Inhalt statt, das ebenso wie die dazugehörige Verschlußkappe aus isostatisch gepreßtem PTFE gefertigt ist (max. Temperatur 200° C). Dieser Einsatz wird in einen Druckbehälter aus Edelstahl nach Tölg (Abb. 5) eingesetzt, der gegen unzulässig hohen Druck (max. 100 bar) durch ein Federsicherheitsventil geschützt ist (Forschungsinstitut Berghof GmbH, 7412 Eningen).

Zu jeder Probe wurde, nachdem sie in das PTFE-Gefäß eingewogen war, 0,7 - 1 ml 65proz. HNO_3 (Suprapur) zugegeben. Das Gefäß wurde in den Druckbehälter eingesetzt und anschließend in ca. 20 min auf eine Temperatur von 180° C gebracht. Dabei war der Druckbehälter von einem speziell für diesen Zweck angefertigten Aluminiumblock umgeben, der über eine elektrische Heizplatte erhitzt wurde. Die Temperatur wurde über 2 h konstant gehalten. Die Regelung erfolgte über einen Thermofühler im Aluminiumblock und ein Temperaturregelgerät, das die Leistungsaufnahme der Heizplatte steuerte. Eine Kontrolle war über ein in den Alublock eingesetztes Thermometer möglich.

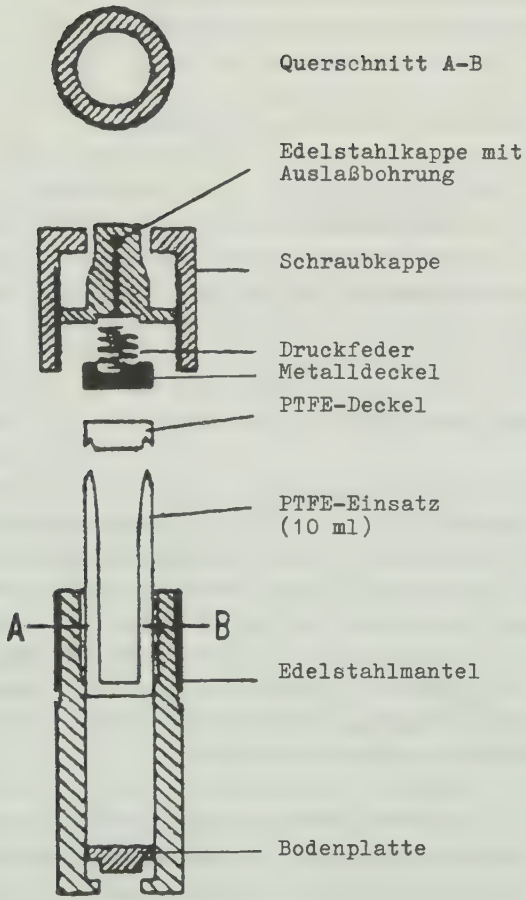

Abb. 5. Druckaufschlußbehälter nach Tölg /62/.

Nach Beendigung des Aufschlusses und Abkühlen auf Zimmertemperatur mußte die Probenlösung klar bis höchstens leicht gelblich gefärbt sein, was auf eine hinreichende Mineralisierung schließen ließ /108/.

11.2.3 Bestimmung des aliquoten Teils

Auf einer Präzisionswaage wurde anschließend Gewicht und Dichte der Probenlösung bestimmt, um den Anteil des konstanten Meßvolumens (25 µl) am Gesamtvolumen der Probenlösung zu ermitteln.

11.2.4 Additionsmethode

Für die Auswertung der mit der AAS gewonnenen Meßergebnisse mit Hilfe einer Eichkurve ist es notwendig, daß Analysenprobe und Eichlösung in ihrer chemischen Zusammensetzung, z.B. bezüglich Säuregehalt und Begleitelemente, sich entsprechen. Ist dies nicht der Fall, so kommt es bei Probe und Eichlösung zu verschiedenen chemischen Interferenzen, die die Atomisierung im Graphitrohr unterschiedlich beeinflussen.

Die genaue chemische Zusammensetzung der verschiedenen Organproben war unbekannt. Es war daher nicht möglich, einen Eichstandard mit derselben Zusammensetzung (Matrix) wie die Analysenprobe herzustellen.

Bei dem von Stiefel et al. beschriebenen Verbundverfahren /104/ wird, nachdem evtl. vorhandene Fremdionen mit EDTA maskiert wurden, das Beryllium als Acetylacetonat-Komplex aus der aufbereiteten Probenlösung extrahiert

und in eine Benzolphase überführt. In ihr läßt sich das Beryllium weitgehend frei von chemischen Interferenzen im Graphitrohr sehr genau bestimmen. Allerdings besteht bei dieser Methode aufgrund der hohen Flüchtigkeit einiger Acetylacetonate eine gewisse Gefahr von Berylliumverlusten /77,114/.

Für die größenordnungsmäßige Abschätzung von Berylliumgehalten in aufgeschlossener organischer Matrix konnte nachgewiesen werden, daß die einfachere Additionsmethode als ausreichend genau zu bezeichnen ist /143/.
Sie bietet die Möglichkeit, das Beryllium direkt in der Probenlösung zu bestimmen und gleichzeitig die Einflüsse der unbekannten Matrix (Matrixeffekte) auf das Meßergebnis zu eliminieren. Allerdings werden unspezifische Absorptionen dadurch nicht beseitigt (s.S. 59: Untergrundkompensation).
In Anlehnung an das Beryllium-Standardadditionsverfahren zur Bestimmung von Beryllium im Harn /142/ wurde die Aufstockung in vereinfachter Weise durchgeführt.
Von jeder Probe wurde in drei verschließbare Eppendorf-Reagensgefäßchen jeweils 200 µl Probenlösung einpipettiert. Aus Gefäß 1 wurden 5 µl, aus Gefäß 2 wurden 10 µl Probenlösung entnommen und verworfen und durch die entsprechende Menge einer Beryllium-Standardlösung (100 µg/l HNO_3) ersetzt. Diese Standardlösung wurde täglich frisch aus der Beryllium-Stammlösung (1 mg/l) hergestellt.
Das Gefäß 3 blieb ohne Aufstockung und enthielt somit die gesuchte Berylliummenge x, während das Gefäß 1 näherungsweise die Berylliummenge x + 0,5 ng und das Gefäß 2 die Menge x + 1 ng enthielt.
Das Vorgehen bei dieser vereinfachten Aufstockung zeigt Tabelle 13.
Bis zur Messung am AAS-Gerät wurden die Gefäße für mind. 3 h bis max. 24 h im Kühlschrank aufbewahrt.

Tabelle 13. Vereinfachtes Additionsverfahren.

	Gefäß 1 1. Aufst.	Gefäß 2 2. Aufst.	Gefäß 3 Probe ohne Be-Zugabe
Probenlösung (aufbereitet in HNO_3)	195 µl	190 µl	200 µl
Zugabe an Be-Standard-lösung (100 µg/l HNO_3)	5 µl	10 µl	-

Da aus den Gefäßen 1 u. 2 5 µl bzw. 10 µl verworfen wurden, ist der genaue Wert für die Berylliummenge in
Gefäß 1: (x - 2,5 %) + 0,5 ng und in
Gefäß 2: (x - 5 %) + 1 ng.
Dieser geringe Fehler lag im Streubereich der Methode und konnte daher in Kauf genommen werden (s.S. 89).

11.3 Pipettierung

Wegen der kleinen Volumina war auf äußerst sorgfältiges Pipettieren zu achten. Es wurden Eppendorf-Mikropipetten (5 - 500 µl) mit Einmal-Pipettenspitzen aus Polyäthylen verwendet. Vor jeder Pipettierung wurden diese mit der zu dosierenden Lösung mehrmals durchgespült, um Fehler durch Benetzungseffekte und evtl. Kontamination der Pipettenspitze gering zu halten.

Von jeder Probenlösung wurde mit einer Mikropipette ein bei allen Messungen konstantes Meßvolumen von 25 µl direkt in die Dosieröffnung des Graphitrohres einpipettiert. Das Einpipettieren mit freier Hand, bei dem geringe Unterschiede in der Einführtiefe und Stellung der Pipettenspitze zum Graphitrohr unvermeidbar waren, hatte erhebliche Schwankungen der Meßergebnisse zur Folge.
Um die Reproduzierbarkeit der Einpipettierung zu erhöhen, wurde die Pipette dabei auf eine speziell für diesen Zweck konstruierte Metallvorrichtung aufgelegt.
Die Reproduzierbarkeit der Messungen erwies sich bei diesem Vorgehen als sehr gut. Als optimale Lösung in bezug auf die Reproduzierbarkeit der Einpipettierung ist der Einsatz eines automatischen Probenwechslers (Auto-Sampling-System) anzusehen.

Die Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Art des Einpipettierens zeigt den Einfluß folgender zwei Faktoren:

1.) die Oberfläche, die die Probe im Graphitrohr einnimmt (Kontaktfläche) und

2.) der Ort im Innern des Graphitrohrs, an den die Probe pipettiert wird.

11.3.1 Kontaktfläche zwischen Probe und Graphitrohr

Je nach Stellung und Bewegung der Pipettenspitze während des Pipettiervorgangs wird die Probenlösung auf einer unterschiedlich großen Oberfläche im Graphitrohr verteilt. Die Übertragung der Wärmeenergie zur thermischen Vorbehandlung und Atomisierung der Probe erfolgt sowohl indirekt durch Wärmestrahlung der die Probe umgebenden Graphitrohrwand als auch direkt über die Kontaktfläche zwischen Graphitrohr und Probe. In beiden Fällen hat die Probenoberfläche Einfluß auf die pro Zeiteinheit von ihr aufgenommene Energie und damit auf den Ablauf der thermischen Vorbehandlung und Atomisierung.
Es ist auch denkbar, daß sich bei größerer Oberfläche die Zahl der Moleküle erhöht, die während der thermischen Vorbehandlung als auch während der Atomisierung die Probe verlassen. Handelt es sich während der thermischen Vorbehandlung dabei um Berylliumatome, was durch die geeignete Wahl des Temperaturprogramms verhindert werden muß, so wird das Meßergebnis dadurch erniedrigt. Sind dies störende Fremdatome, so wird auf Grund einer geringeren chemischen Interferenz das Ergebnis der Messung evtl. erhöht.

Die Oberfläche, die die Probe im Graphitrohr einnimmt, wird außer von der Art des Einpipettierens auch von der Probe selbst, d.h. von ihrem Benetzungsverhalten bestimmt. So zeigen z.B. wäßrige berylliumhaltige Probenlösungen ein anderes Benetzungsverhalten als benzolische Lösungen /104/.

11.3.2 Lokalisation der Probe im Graphitrohr

Die Dicke der Graphitrohrwand kann an verschiedenen Stellen unterschiedlich groß sein. Dies gilt vor allem für Graphitrohre, die schon mehrmals verwendet wurden, da sie sich nicht gleichmäßig abnützen. Da die Heizung des Graphitrohrs elektrisch über seinen ohmschen Eigenwiderstand erfolgt (s.S. 78) und dieser auch von der Wandstärke abhängt, können somit an verschiedenen Stellen unterschiedliche Temperaturen auftreten.
Für die Reproduzierbarkeit der Messung ist es daher von großer Bedeutung, daß die Probe immer an derselben Stelle und in derselben Form im Graphitrohr deponiert wird.

11.4 Einfluß des Graphitrohrs auf die Messung

Um Oxidationsvorgänge am glühenden Graphitrohr zu verringern, wird es von einem Schutzgas, z.B. Argon, umströmt und durchflossen. Insbesondere wird das Graphitrohr durch die externe Strömung des Schutzgases vor frühzeitiger Oxidation geschützt. Die interne Gasströmung und somit auch der Gasstop bei der Atomisierung hat, wie in verschiedenen Untersuchungen festgestellt wurde /40/, praktisch keinen Einfluß auf die Lebensdauer des Graphitrohrs.
Trotz der Schutzgasströmung findet eine gewisse Oxidation statt, die schließlich die Lebensdauer eines Graphitrohrs bestimmt. Dieser Abbrand erfolgt nicht gleichmäßig, sondern hängt einerseits vom Abnützungsgrad der Graphitrohrhalterung ab, die ebenfalls aus Graphit besteht und über die der elektrische Strom zugeführt wird.

Andererseits hat die chemische Beschaffenheit der einpipettierten Probenlösung erheblichen Einfluß auf die Lebensdauer eines Graphitrohrs. Diese beträgt bei wässerigen Lösungen bis zu 200 Messungen, während bei Säuren in Abhänigkeit von ihrer Aggressivität nur 50 bis 100 Messungen möglich sind.

Da die aufbereiteten Beryllium-Probenlösungen noch erhebliche Mengen an Salpetersäure enthielten und direkt in das Graphitrohr eingegeben wurden, war die Abnützung des Graphitrohrs relativ groß. Die Höhe des Atomisierungspeaks nahm daher geringfügig, jedoch stetig ab, bis schließlich keine reproduzierbaren Meßergebnisse mehr erzielt werden konnten.
Innerhalb einer Meßreihe, die für eine Probe aus 6 bis max. 9 Messungen bestand, konnten die Meßbedingungen von seiten des Graphitrohrs jedoch als ausreichend konstant angesehen werden. Dies wurde mit einer Beryllium-Standardlösung (10 µg/l) überprüft. War die Reproduzierbarkeit nicht mehr gegeben, so wurde das Graphitrohr ausgewechselt. Die Zahl der mit einem Graphitrohr möglichen Messungen schwankte zwischen 65 und 91. Im Durchschnitt waren 76 Messungen pro Graphitrohr möglich.

11.4.1 Vorbehandlung des Graphitrohrs mit Zirkon

Durch eine Beschichtung des Graphitrohrs mit Zirkon kann das Nachweisvermögen für Beryllium erheblich gesteigert werden /95/. Nach Untersuchungen von Stiefel et al. /104/ wird das Signal einer wässerigen $BeCl_2$-Lösung um das 9,4fache erhöht, wobei für eine max. Signalsteigerung bei dem verwendeten Graphitrohr (HGA-72) eine Zirkonmenge von 40 mg pro Graphitrohr erforderlich ist.

Das Zirkon bildet mit dem Graphit bei hoher Temperatur eine stabile Zirkoniumcarbid-Schicht /140/, die wahrscheinlich den Verlust von Berylliumatomen infolge von Diffusion durch die Wand des Graphitrohrs verhindert.

Zirkon, ein Element der 2. Nebengruppe, ist ein relativ weiches, sehr resistentes Metall, das u.a. in der chemischen Industrie (Schmelztiegel, korrosionsfeste Leitungen) und im Kernreaktorbau (Umhüllungen und Halterungen der Brennelemente, Auskleidung des Druckkessels u. a.) verwendet wird /29/. In der modernen Glasfasertechnik ermöglicht es als Basismaterial anstelle von Quarz die Herstellung von Glasfasern mit minimalen Dämpfungswerten /34/.

Jedes Graphitrohr wurde für mind. 24 h in eine gesättigte Zirkoniumdichloridoxid-Lösung gelegt, der einige Tropfen des Detergens Triton X-100^{R} zugesetzt waren . Auf eine sich anschließende gute Trocknung des Graphitrohrs war besonders zu achten, da sonst auf Grund des verringerten elektrischen Widerstandes mit unzulässig großen Stromstärken zu rechnen war. Die Trocknung erfolgte bei ca. 120^{o} C über 12 h im Trockenschrank. Mit jedem neuen mit Zirkon beschichteten Graphitrohr wurde das ermittelte Temperaturprogramm (s.S. 86) dreimal ohne Probe durchlaufen, um Verunreinigungen zu entfernen und die Bildung der Zirkoniumcarbid-Schicht zu erreichen.

11.5 Programmierbare Steuerung der Graphitrohrtemperatur

Die Temperatur des Graphitrohrs wird über die ihm zugeführte elektrische Leistung bzw. über die anliegende Spannung durch ein Steuergerät geregelt. Bei der verwendeten Graphitrohrküvette (HGA-74 von Perkin-Elmer) beträgt der durch das Graphitrohr fließende maximale Strom ca. 500 A bei 10 V, was einer Temperatur von ca. 2700° C entspricht. Die tatsächlich im Graphitrohr herrschende Temperatur wird bei dem verwendeten Gerätetyp allerdings nicht gemessen. Sie hängt auch von der Temperatur des Kühlwassers und des Schutzgases sowie von elektrischen und thermischen Übergangswiderständen ab. Durch Schwankungen dieser Werte, insbesondere durch Abnützung der Graphitrohrhalterung, können bei gleicher Einstellung des Steuergeräts unterschiedliche Temperaturen im Graphitrohr auftreten.
Da diese Schwankungen als relativ gering anzunehmen waren, wurden sie bei der Versuchsdurchführung nur durch die Beachtung der Reproduzierbarkeit der Atomisierungspeaks kontrolliert.

An dem Steuergerät, über das die Stromzufuhr des Graphitrohrs geregelt wird, läßt sich ein Programm einstellen, das aus maximal 5 Stufen besteht. Für jede dieser Stufen ist die Dauer in s oder min und die dabei gewünschte Temperatur in Digitalschritten D von 0 - 999 einstellbar. Auf Stufe 3 ist eine kontinuierliche Temperatursteigerung (Gleiten) bis zu einem einstellbaren Endwert möglich, während auf den übrigen Stufen die eingestellte Temperatur konstant gehalten wird.

Für die thermische Vorbehandlung und die Atomisierung der jeweiligen Probenmatrix bzw. des jeweiligen Elements läßt sich somit ein optimales Temperaturprogramm

festlegen, das sich automatisch bei jeder Messung wiederholt. Optimal bedeutet einerseits, daß während der thermischen Vorbehandlung möglichst alle störenden Begleitverbindungen entfernt werden, aber noch keine Verluste an dem zu bestimmenden Element auftreten. Andererseits muß die Atomisierungstemperatur so hoch sein, daß das Element vollständig in Atome überführt wird. Für jedes Element bzw. für jedes Gemisch von chemischen Verbindungen, in denen es in der Probe vorliegt, müssen die optimalen Temperatur- und Zeitwerte ermittelt werden.

Das Temperaturprogramm gliedert sich in folgende Teilschritte:
1.) Trocknung
2.) Thermische Zersetzung
3.) Atomisierung und Ausheizen des Graphitrohrs

11.5.1 Trocknung (Programmstufe 1 und 2)

In diesem ersten Schritt soll der Probe die Flüssigkeit entzogen werden.
Die Trocknungstemperatur muß etwas unter der Siedetemperatur des Lösungsmittels liegen. Bei höherer Temperatur besteht die Gefahr, daß die Probe durch Bildung von Gasbläschen zerpritzt und dadurch größere Verluste auftreten.
Die Trocknungszeit hängt auch von dem einpipettierten Meßvolumen ab und darf nicht zu kurz gewählt werden, da sonst am Ende des Programmschritts noch Flüssigkeit vorhanden sein kann. Bei Steigerung der Temperatur auf der folgenden Programmstufe bestände dann die Gefahr, daß durch Zerspritzen der Probe wiederum große Verluste auftreten.

Mit einer bezüglich des Lösungsmittels der Probenlösung angepaßten Eichlösung (10 µg Be/l in 65proz. HNO_3) wurden mehrfach Messungen durchgeführt, wobei die Temperatur und Zeit der Stufen 1 und 2 unter Beachtung obiger Kriterien verändert wurden. Die Werte für die gleitende Zersetzung und die Atomisierung (Stufe 3 und 4) blieben konstant. Es wurden dafür Erfahrungswerte genommen, die sowohl eine ausreichende Abtrennung von Begleitverbindungen als auch eine vollständige Atomisierung annehmen ließen. Diese Werte waren in diesem Versuch unkritisch, da nur der Einfluß von Zeit und Temperatur des Trocknungsschritts untersucht werden sollte.
Die konstanten Werte für die thermische Zersetzung (Stufe 3) waren: gleitende Temperaturerhöhung von der jeweiligen Temperatur der Stufe 2 auf 460° C (300 D) mit einer Anstiegsgeschwindigkeit von 250 D/min (rate 7) und für die Atomisierung (Stufe 4): Temperatur 2650° C (999 D), Zeit: 20 s.

Für die Trocknung waren die Zeit- und Temperaturwerte als optimal anzusehen, bei denen die Probe nicht zerspritzte, was meist hörbar war, und sich eine maximale Extinktion ergab. Der geringste Verlust an Eichlösung zeigte sich in einer entsprechenden Erniedrigung des Meßergebnisses.

Es wurden folgende Werte ermittelt:

Trocknung (Stufe 1):	Temperatur:	39° C (45 D)
	Zeit:	15 s
Trocknung (Fortsetzung auf Stufe 2) :	Temperatur:	100° C (122 D)
	Zeit:	45 s

Es ist anzumerken, daß sich der Trocknungsvorgang grundsätzlich auch in einem einzigen Programmschritt durchführen läßt. Die Verteilung auf zwei Stufen bringt durch die mögliche Temperatursteigerung eine Verkürzung der Trocknungszeit mit sich.

11.5.2 Thermische Zersetzung (Programmstufe 3)

Organische und anorganische Verbindungen, die durch unspezifische Absorption und begleitende Elemente, die infolge von chemischen Interferenzen das Meßergebnis beeinflussen, müssen vor der Atomisierung möglichst vollständig aus der Probe entfernt werden.
Dies kann durch kontinuierliche Steigerung der Temperatur geschehen (gleitende Zersetzung). Dadurch werden die störenden Verbindungen an ihren jeweiligen Siedepunkten zur Dissoziation gebracht und mit der Strömung des Schutzgases aus dem Graphitrohr entfernt.

Bei manchen Analysen ist auch eine isotherme Zersetzung durchführbar, bei der die Temperatur ohne zeitliche Verzögerung auf den Siedepunkt der abzutrennenden Verbindung angehoben wird. Sie läßt sich ohne Nachteile dann anwenden, wenn nur eine einzige Verbindung zur Dissoziation gebracht werden soll bzw. das zu bestimmende Element in einer schwerflüchtigen Matrix enthalten ist. Liegen verschiedene Substanzen mit unterschiedlichen Verflüchtigungstemperaturen vor, so könnten durch die plötzliche Temperaturerhöhung infolge von Mitreißeffekten evtl. Verluste auftreten. Bei den durchgeführten Messungen (leichtflüchtige Matrix, z.Tl. unbekannte Verbindungen) kam folglich die gleitende thermische Vorbehandlung mit Vorteil zur Anwendung.
Im Idealfall soll am Ende der thermischen Zersetzung nur noch die zu bestimmende Substanz und ihre Verbindungen vorliegen.

Um den Temperaturbereich zu ermitteln, in dem noch keine Berylliumverluste auftraten, wurde die thermische Zersetzungskurve erstellt, die für die zu analysierenden Proben weitgehende Gültigkeit besaß (Abb. 6).

Dazu bestimmte man mehrmals, wie bei der Ermittlung der optimalen Trocknungstemperatur, den Berylliumgehalt einer sauren Beryllium-Standardlösung. Die Endtemperatur der gleitenden Zersetzung wurde dabei von Messung zu Messung in Ein- oder Zweihundert-Grad-Schritten erhöht. Die Temperaturanstiegsgeschwindigkeit blieb konstant. Ebenso die Temperatur- und Zeitwerte für die Trocknung und Atomisierung, für die die bereits ermittelten bzw. angenommenen Werte programmiert wurden.

Der Atomisierungspeak wurde ab einer bestimmten Zersetzungstemperatur kleiner, da sich bei ihr die erste berylliumhaltige Verbindung verflüchtigte. Als maximal mögliche Endtemperatur der gleitenden Zersetzung ergab sich somit die höchste Temperatur, bei der noch keine Erniedrigung des Meßergebnisses festzustellen war. Aus Sicherheitsgründen wurde für die Endtemperatur des Gleitprogramms ein Wert gewählt, der um 100° C unter der maximal möglichen Temperatur lag.

Als optimaler Wert für die thermische Zersetzung (Stufe 3) ergab sich:

gleitende Temperaturerhöhung bis 1300° C (500 D) mit einer Anstiegsgeschwindigkeit von 250 D/min (rate 7).

11.5.3 Atomisierung und Ausheizen (Programmstufe 4)

Die Atomisierungstemperatur muß so hoch gewählt werden, daß alle Berylliumatome aus ihren unterschiedlich stabilen Bindungen heraus zur Dissoziation gebracht werden. Um diese Temperatur zu ermitteln, wurde für die den Proben weitgehend angepaßte Eichlösung die Atomisierungskurve erstellt (Abb. 6).

Dazu wählte man die bereits ermittelten konstanten Temperatur- und Zeitwerte der Trocknung und thermischen Zersetzung und steigerte bei jeder Messung die Atomisierungstemperatur in Ein- oder Zweihundert-Grad-Schritten. Ab einer bestimmten Temperatur wurde ein Signal gemessen, das durch die Atomisierung der am leichtesten dissoziierbaren Berylliumverbindung zustande kam. Bei steigender Atomisierungstemperatur nahm die Extinktion bis zu einem Maximalwert zu. Bei dieser Temperatur war das gesamte Beryllium aus der Probe atomisiert.

Die Atomisierungszeit muß mindestens so lang gewählt werden, daß die Extinktion ihren höchsten Wert erreicht hat, da dieser Maximalwert als Meßergebnis dient (s.S. 87). Anschließend muß das Graphitrohr für ca. 10 s auf Maximaltemperatur (ca. 2700° C) aufgeheizt werden (Ausheizen), wodurch schwerflüchtige Verbindungen entfernt werden, die sich sonst im Graphitrohr anreichern würden.

Bei den Messungen wurde die Atomisierungstemperatur so lange beibehalten, bis die Extinktion auf Null zurückgegangen war. Diese Zeit lag bei 15 - 20 s und war im übrigen auch durch die Übertemperatursicherung des Steuergeräts begrenzt. Diese unterbrach die Stromzufuhr zum Graphitrohr, wenn die Temperatur des Kühlwassers, das die Halterung des Graphitrohrs durchfloß, über 60° C anstieg.

Der als optimal ermittelte Temperaturwert der Atomisierung (Stufe 4) entsprach der möglichen Maximaltemperatur:

Temperatur: 2650° C (999 D)

Zeit: 15 s

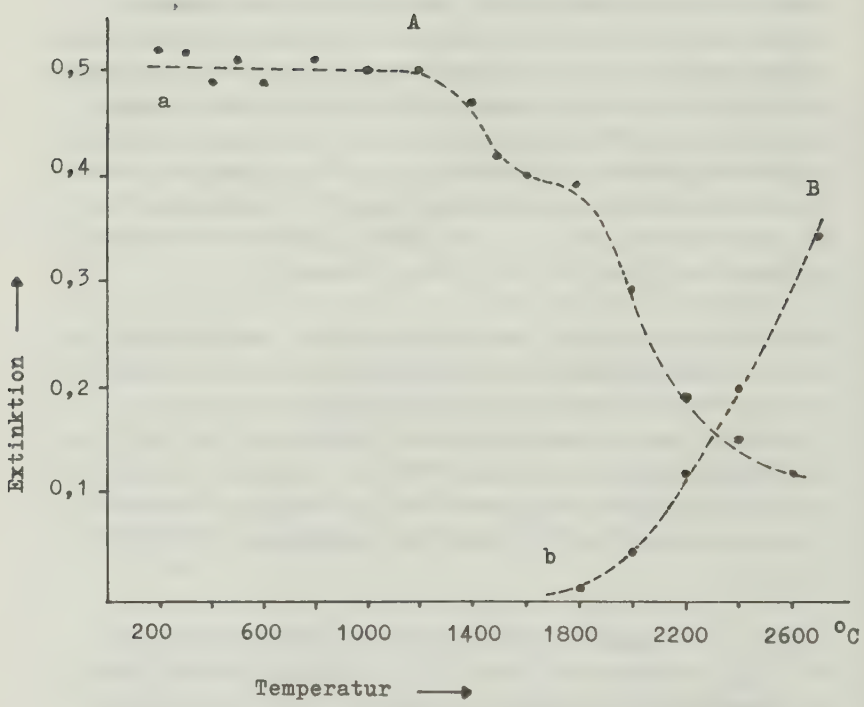

Abb. 6. Thermische Zersetzungskurve (a) und Atomisierungskurve (b) einer sauren Berylliumlösung (Konzentration 10 µg/l mit HNO_3 auf pH 2 eingestellt).
A: optimale Zersetzungstemperatur
B: optimale Atomisierungstemperatur

Anmerkungen zur thermischen Zersetzungs- und Atomisierungskurve (Abb. 6)

1.) Die Atomisierungskurve geht im Idealfall ab einer bestimmten Temperatur, der optimalen Atomisierungstemperatur, in ein Plateau über. Dabei liegt das gesammte zu bestimmende Element in atomarer Form vor, sodaß auch bei weiterer Temperatursteigerung keine Signalerhöhung mehr möglich ist. Dies war bei der Atomisierungskurve der Berylliumlösung nicht der Fall, da die optimale Atomisierungstemperatur in den Bereich der technisch maximal möglichen Temperatur fiel. Bei der Bestimmung anderer Elemente ist dies meistens nicht der Fall.

2.) Das Atomisierungssignal bei der optimalen Zersetzungstemperatur (Punkt A), bei der störende Begleitverbindungen entfernt, aber noch keine Berylliumverluste aufgetreten sind, müßte theoretisch mit dem bei der optimalen Atomisierungstemperatur (Punkt B) übereinstimmen. Dies traf in Abbildung 6 nicht zu, was zum einen dadurch erklärbar ist, daß die beiden Kurven mit unterschiedlichen Temperaturprogrammen aufgenommen werden mußten. Der andere Grund ist die Tatsache, daß die einzelnen Meßwerte nacheinander mit demselben Graphitrohr ermittelt wurden. Zwischen Punkt A und Punkt B lagen ca. 40 Messungen bzw. Ausheizungen, da beim Erstellen der Atomisierungskurve nach jeder Messung ein zusätzliches Ausheizen nötig war, um das nicht atomisierte Beryllium aus dem Graphitrohr zu entfernen. Das Graphitrohr unterlag dabei einer kontinuierlichen Abnützung, was mit einer Größenabnahme der einzelnen Atomisierungspeaks einherging. Auf die Genauigkeit der Messung hatte dies praktisch keinen Einfluß, was aus dem linearen Teil der Kurve a deutlich hervorgeht: Innerhalb der Meßreihe einer Probe (6 - 9 Messungen) war die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse weitgehend gewährleistet.

11.5.4 Zusammenfassung des Temperaturprogramms

Das für die Berylliumbestimmung ermittelte Temperaturprogramm setzte sich somit aus den in Tabelle 14 angegebenen Temperatur- und Zeitwerten zusammen.

Tabelle 14. Optimales Temperaturprogramm.

Programmstufe	Temp.	D	Zeit
1 Trocknen	39° C	45	15 s
2 Trocknen (Fortsetzung)	100° C	122	45 s
3 Thermische Zersetzung	Gleiten auf 1300° C	500	250 D/min
4 Atomisierung und Ausheizen	2650° C	999	15 s

D = Digitaleinstellung der Temperatur am Steuergerät der Graphitrohrküvette

11.6 Messung

Die Absorptionsmessung erfolgte bei der für Beryllium typischen Wellenlänge von 234,9 nm und der spektralen Auflösung (Spaltbreite) des Monochromators von 0,7 nm. Als Meßergebnis wurde die Extinktion analog angezeigt und ihr zeitlicher Verlauf von einem Schreiber aufgezeichnet.

Der Berylliumgehalt jeder Probe und jeder Aufstockung wurde zweimal bestimmt. Bei beiden Messungen ergaben sich infolge der guten Reproduzierbarkeit dieser Meßmethode fast immer dieselben Extinktionswerte. Großen Einfluß hatte die Technik des Einpipettierens, die, obgleich manuell vorgenommen, sich als in hohem Maße reproduzierbar erwies (s.S. 73). Stimmten die beiden Meßwerte nicht überein, so wurde eine dritte Messung angeschlossen und der Mittelwert gebildet.

Während der Atomisierung steigt die Extinktion von Null auf einen Maximalwert an und fällt dann wieder auf Null zurück. Unter der Annahme weitgehender Störfreiheit durch unspezifische Absorptionen ist die Fläche zwischen Extinktionskurve und Zeitachse (Integral) das genaue Maß für die während des Atomisierungsintervalls stattgefundene atomare Absorption und damit für den Berylliumgehalt der Probe.
Für die einfachere praktische Auswertung ist gezeigt worden, daß der Maximalwert der Extinktion ausreichend gut mit dem Berylliumgehalt korreliert, sofern dieser Extinktionspeak schmal und spitz ist, was auf eine annähernd gleichzeitige Dissoziation und Absorption aller Berylliumatome schließen läßt /130/.
Bei einem flachen oder welligen Verlauf der Extinktionskurve, der durch stark verzögerte Freisetzung von Berylliumatomen aus unterschiedlich stabilen Verbindungen zustande käme (chemische Interferenz), wäre der maximale Extinktionswert als verläßliches Maß für den Berylliumgehalt nicht zu gebrauchen. In diesem Fall müßte durch Integration der richtige, d.h. der spezifischen Absorption entsprechende Wert gewonnen werden.

Bei den Messungen ergaben sich spitze Extinktionspeaks, sodaß auf die Berechnung des Integrals verzichtet werden konnte. Als Meßergebnis wurde stets der Wert der

maximalen Extinktion verwendet. Für jede Probe lagen drei Extinktionswerte vor:

1.) die Extinktion der nicht aufgestockten Probe,
2.) die Extinktion der mit 0,5 ng Be/0,2 ml aufgestockten Probe,
3.) die Extinktion der mit 1 ng Be/0,2 ml aufgestockten Probe.

11.7 Geräte

Die Meßanordnung bestand aus folgenden Geräten (Perkin-Elmer, 7770 Überlingen):

Atom-Absorptions-Spektrophotometer 400 S,
Graphitrohrküvette HGA-74,
Recorder 56.

Aus der Dosieröffnung des Graphitrohrs entwichen beim Durchlaufen des Temperaturprogramms aggressive Säuredämpfe. Diese wurden zum Schutz der Meßgeräte durch eine Absaugvorrichtung, die sich direkt über der Pipettieröffnung des Graphitrohres befand, abgeleitet.

11.8 Auswertung der Meßergebnisse

In einem Koordinatensystem wurden die Extinktionswerte der Probe und ihrer beiden Aufstockungen (Ordinate) gegen die jeweils addierte Berylliummenge (Abszisse) aufgetragen. Solange im linearen Meßbereich gearbeitet wurde, was bis zu einer Berylliumkonzentration von ca. 15 µg/l, entsprechend ca. 40 % Absorption, der Fall war, ließen sich die drei Meßpunkte durch eine Gerade verbinden. Der Schnittpunkt dieser Geraden mit der Abszisse

entsprach bei dem linearen Verhalten der Extinktion der gesuchten Berylliumkonzentration in der Probe. Aus diesem Wert wurde die Berylliummenge pro Gramm der Organprobe errechnet.
Der lineare Meßbereich wurde durch die Analyse von Standardlösungen mit ansteigenden Berylliumkonzentrationen kontrolliert. Aufgrund der geringen Berylliumkonzentrationen war bei der Mehrzahl der Proben das Arbeiten im linearen Meßbereich gewährleistet. Bei drei Proben (Probe 2, 6 und 7) lag die Berylliumkonzentration der zweiten Aufstockung bei max. 19 µg/l und somit geringfügig außerhalb des linearen Meßbereichs. Bei der zeichnerischen Auswertung der Meßergebnisse wurde diese Abweichung berücksichtigt. Bei höheren Konzentrationen hätte durch entsprechende Verdünnung der Proben der lineare Meßbereich eingestellt werden müssen.

Durch das Verwerfen von 5 µl bzw. 10 µl Probenlösung bei der vereinfachten Additionsmethode waren die gemessenen Extinktionswerte der vereinfachten Aufstockungen E_1 bzw. E_2 im Vergleich mit korrekten Aufstockungen geringfügig zu nieder. Um die exakten Werte zu bekommen, müßte man zu beiden Extinktionen 2,5 % bzw. 5 % vom Extinktionswert E_o der nicht aufgestockten Probe hinzufügen:

$$E_{1\ \text{korrigiert}} = E_1 + \frac{2,5}{100} \cdot E_o$$

$$E_{2\ \text{korrigiert}} = E_2 + \frac{5}{100} \cdot E_o$$

Diese Korrektur liegt jedoch im Streubereich der Methode, was bei der zeichnerischen Auswertung der Extinktionswerte erkennbar ist. Daher konnte bei diesen Untersuchungen auf die Korrektur verzichtet werden.

11.9 Statistische Betrachtung

11.9.1 Präzision

Um die Genauigkeit der gesamten Messung (Präzision in der Serie) zu ermitteln, müßte man sämtliche Analysenschritte mit derselben Probe mehrmals durchlaufen. Der Berylliumgehalt der einzelnen Gewebepartikel, die von demselben Lungenpräparat stammen, kann jedoch durchaus schwanken, da das Beryllium nicht gleichmäßig im Lungengewebe verteilt ist, sondern vielmehr in Abhänigkeit von organischen Strukturen (Alveolen, Bronchien, Blutgefäßen) in unterschiedlichen Konzentrationen vorliegt. Diese lokalen Konzentrationsunterschiede können sich bis auf den 10fachen Wert belaufen /120/. Entnimmt man die einzelnen Gewebeproben aus derselben Lungenregion und achtet dabei auf makroskopische Identität der organischen Strukturen, so wird die Schwankungsbreite zwischen den einzelnen Meßwerten relativ gering sein. Unter der Annahme, daß das Lungengewebe gleichmäßig durchblutet und belüftet wurde und somit die Aufnahme und Speicherung des Berylliums die gesamte Lunge in gleichem Maße betraf, könnten die ermittelten Werte zwar als Anhaltspunkt für den Berylliumgehalt der ganzen Lunge dienen, doch als Werte für die Präzisionskontrolle des eigentlichen Meßvorgangs wären sie nicht verwendbar.

Aus diesem Grund wurden mehrere aufbereitete Probenlösungen zu einer Kontrollösung vermischt, die mit Salpetersäure verdünnt wurde. Dadurch war sowohl ein einheitlicher Berylliumgehalt als auch ein genügend großes Probenvolumen gewährleistet. Mit dieser Kontrollösung wurden sämtliche Analysenschritte mit Ausnahme

der Druckaufbereitung zehnmal durchlaufen. Aus den zehn Meßwerten wurde der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung sowie der Variationskoeffizient errechnet.

Die mögliche Fehlerquelle bei der nicht erfaßten Aufbereitung im PTFE-Druckbehälter bestand hauptsächlich in der Verfälschung der Meßwerte durch Adsorption und Desorption von Beryllium an der Gefäßwand. Diese wurde durch die stichprobenartigen Leerwertbestimmungen mehrmals überprüft und konnte daraufhin ausgeschlossen werden. Dagegen waren sämtliche Wägungs- und Pipettiervorgänge, die in hohem Maße bestimmend für die Präzision waren, in den Kontrollmessungen enthalten.

Der ermittelte Wert x der Berylliumkonzentration der Kontrollösung schwankte bei den Messungen (n = 10) zwischen 1,0 und 1,6 µg/l.

Der Mittelwert $\bar{x}$ betrug 1,26 µg/l.

Für die absolute Standardabweichung s ergab sich:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}} = (\pm)\ 0{,}21\ \mu g/l$$

Für den Variationskoeffizient VK wurde der Wert ermittelt:

$$VK = \frac{s \cdot 100}{\bar{x}} = (\pm)\ 16{,}67\ \%$$

11.9.2 Richtigkeit

Bei drei Proben (1, 2 und 4), deren Berylliumgehalt bereits bestimmt worden war, wurde ein Wiederfindungsversuch durchgeführt. Dazu wurden jeweils 30 µl einer Beryllium-Standardlösung, entsprechend 3 ng Be, vor der Druckaufbereitung den Gewebeproben zugegeben.
Die gefundenen Berylliumkonzentrationen in Gegenüberstellung zu den erwarteten Werten zeigt Tabelle 15.

Tabelle 15. Wiederfindungswerte bei 3 Lungengewebspräparaten.

Probe	Berylliumkonzentration (ng/g)			
	ohne Be-Zugabe	nach Zugabe von 3 ng Be		Wiederfindungsrate
		erwartet	gemessen	
1	15,9	30,2	26,7	88,4 %
2	29,1	41,6	30,3	72,8 %
4	8,0	22,8	23,1	101,3 %

12. Zusammenfassung

Da bei der zunehmenden industriellen Verwendung von Beryllium seine toxikologische Bedeutung anfangs nicht erkannt wurde, hatten akute und chronische Vergiftungen bis in die 50er Jahre eine große arbeitsmedizinische Bedeutung. Nach der Einführung von Grenzwerten für die höchstzulässigen Berylliumkonzentrationen in berylliumverarbeitenden Betrieben ließ sich mit Hilfe von Schutz- und Überwachungsmaßnahmen die Zahl der beruflichen Berylliosеerkrankungen auf ein Minimum reduzieren.
Die akuten und chronischen Wirkungen des Berylliums werden aufgezeigt und die von Fachleuten diskutierte Auffassung dargelegt, daß bei der chronischen Berylliose und möglicherweise auch bei der krebserzeugenden Wirkung auf manche Tierarten immunologische Faktoren im Sinne von spätallergischen und autoimmunologischen Reaktionen eine entscheidende Rolle spielen.
Aufgrund der Verwendung von Beryllium als Bestandteil in modernen Hochenergietreibstoffen für Raketenantriebe stellt sich die Frage eines Ansteigens der außerberuflichen Berylliumbelastung der Bevölkerung. Als Hinweis darauf kann die Beobachtung gewertet werden, daß die Sarkoidose der Lunge (M. Boeck) in den letzten Jahrzehnten häufiger diagnostiziert wurde und im Lungengewebe von Sarkoidose-Patienten erhöhte Berylliumkonzentrationen gefunden wurden. Ungeklärt ist, ob die Einwirkung von Beryllium unmittelbar für die Entstehung der Sarkoidose verantwortlich war, oder ob es sich dabei in Wirklichkeit um Fälle von chronischer Berylliose gehandelt hat. Aufgrund der großen klinischen und histologischen Ähnlichkeit zwischen der Sarkoidose und der chronischen Berylliose kann die differentialdiagnostische Unterscheidung schwierig sein, sodaß die Möglichkeit einer diagnostizierten Sarkoidose in tatsäch-

lichen Fällen von nicht erkannter Berylliose nicht ausgeschlossen werden kann.
In konservierten Lungen- und Lebergewebsproben aus den 30er und 50er Jahren wurde die Berylliumkonzentration bestimmt und mit den Werten verglichen, die in Gewebeproben aus heutiger Zeit gefunden wurden. Die Proben stammten von Personen, von denen eine berufliche Berylliumexposition weder bekannt war noch ausgeschlossen werden konnte. Die Gewebeproben wurden im Druckaufschlußverfahren mineralisiert und der Berylliumgehalt nach dem Additionsverfahren mit der flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie im Graphitrohr bestimmt.
Auf die theoretischen und praktischen Voraussetzungen zur Durchführung der Analysen sowie auf die Besonderheiten der Spurenanalyse in biologischem Material wird in detaillierter Form eingegangen.
In den Lungengewebsproben aus den Jahren 1953 - 59 (n = 6) wurde mit 28,3 ng/g (Feuchtgewicht) eine höhere mittlere Berylliumkonzentration gefunden als in den Proben aus den Jahren 1933 - 39 (n = 4) mit 17,7 ng/g. Die mittlere Berylliumkonzentration in den Lebergewebsproben aus den Jahren 1934 - 58 (n = 6) lag bei 17,1 ng/g. Deutlich geringer war der Berylliumgehalt der Lungengewebsproben aus den Jahren 1982 und 1984/85 (n = 21) mit einem Mittelwert von 3,6 ng/g.
Bei einem Teil der Gewebeproben wurde die zur Konservierung verwendete Formalinlösung ebenfalls analysiert, wobei sich im Formalin der über Jahrzehnte konservierten Organe Berylliumkonzentrationen fanden, die entsprechend dem Berylliumgehalt der jeweiligen Gewebeprobe schwankten. Die Richtigkeitskontrolle des angewandten Analysenverfahrens ergab Wiederfindungsraten zwischen 72,8 % und 101,3 %.
Die Ergebnisse der Untersuchung deuten darauf hin, daß vor Einführung der arbeitsmedizinischen Schutz- und Überwachungsmaßnahmen beim Umgang mit Beryllium auch die

außerberufliche Berylliumexposition höher war als heutzutage, wobei während des 2. Weltkriegs die Bevölkerung wahrscheinlich einer besonders hohen Berylliumbelastung ausgesetzt war. Die möglicherweise zunehmende Belastung der Atmosphäre mit großen Mengen von Beryllium durch seine Verwendung als Bestandteil moderner Festtreibstoffe bleibt jedoch problematisch, zumal eine endgültige Klärung der Frage einer kanzerogenen Wirkung auf den Menschen noch aussteht.

13. Literaturverzeichnis

1. ALEKSEEVA, O. G.: Ability of beryllium compounds to cause allergy of the delayed type. Gig. Tr. Prof. Zabol. 9 (1965), 20.

2. ALEKSEEVA, O. G.: Gig. Tr. Prof. Zabol. 11 (1967), 29.

3. ALEKSEEVA, O. G.: New theories of the mechanism of immunopathogenesis of berylliosis. Gig. Tr. Prof. Zabol. 2 (1979), 5 - 10.

4. ALEKSEEVA, O. G., VOLKOVA, A. P., SVINKINA, N. V.: Farmakol. Toksikol. 29 (1966), 353.

5. ALKEMADE, C. Th. J., MILATZ, J. M. W.: Appl. Sci. Res. Sect. B 4 (1955), 289.

6. ALKEMADE, C. Th. J., MILATZ, J. M. W.: J. Opt. Soc. Am. 45 (1955), 583.

7. BARNES, J. M., DENZ, F. A., SISSONS, H. A.: Beryllium bone sarcomata in rabbits. Brit. J. Cancer 4 (1950), 212 - 222.

8. BAUMGARDT, B., JACKWERTH, E., OTTO, H., TÖLG, G.: Zur Spurenanalytik von Schwermetallen in menschlichen Lungen. Atemw. u. Lungenkrkh. 11 (1985), 265 - 266.

9. BRESLIN, A. J.: in: Stokinger, H. E. (Hrgb.): Beryllium - its industrial hygiene aspects. Acad. Press, New York-London 1966, 23.

10. BUTTGEREIT, G.: Erfahrungen mit der flammenlosen Atom-Absorptions-Spektroskopie. Perkin-Elmer Analysentechnische Berichte, Bericht Nr. 16/1972.

11. CHIAPPINO, G., DI BELGIOJOSO, B. G., CIRLA, A. M.: Hypersensitivity to beryllium compounds: inhibition of intradermal reaction in guinea pigs by antilymphocyte serum. Boll. Ist. Sieroter. Mil. 47 (1968), 669 - 677.

12. CHIAPPINO, G., CIRLA, A., VIGLIANI, E. C.: Delayed-type hypersensitivity reactions to beryllium compounds. An experimental study. Arch. Path. 87 (1969), 131 - 140.

13. CHOLAK, J.: The analysis of traces of beryllium. AMA, Arch. Ind. Health 19 (1959), 205.

14. CIRLA, A. M., DI BELGIOJOSO, B. G., CHIAPPINO, G.: Hypersensitivity to beryllium compounds: passive transfer in guinea pigs by lymphoid cells. Boll. Ist. Sieroter. Mil. 47 (1968), 663 - 668.

15. CLARY, J. J., HOPPER, C. R., STOKINGER, H. E.: Altered adrenal function as an inducer of latent chronic beryllium disease. Toxicol. Appl. Pharmacol. 23 (1972), 365 - 375.

16. CLARY, J. J., STOKINGER, H. E.: The mechanism of delayed biologic response following beryllium exposure. J. Occup. Med. 15 (1973), 255 - 259.

17. CLEAVE, C. D. VAN: Distribution and retention of carrier-free radioberyllium in the rat. Arch. Ind. Health 7 (1953), 367.

18. CLEAVE, C. D. VAN, KAYLOR, C. T.: Distribution, retention and elimination of Be^7 in the rat after intratracheal application. Arch. Ind. Health 11 (1955), 375 - 392.

19. CRYSTAL, R. G.: State of the art. The pathogenesis of sarcoidosis. In: Chrétien, J., Marsac, J., Saltiel, J. C. (Hrgb.): Sarcoidosis. Pergamon Press, Paris-Oxford-New York 1981, S. 13 - 35.

20. DE NARDI, J. M.: Chronic pulmonary interstitial granulomatosis preliminary report on two patients treated with ACTH. Arch. Indust. Hyg. Occup. Med. 3 (1951), 543 - 546.

21. DE NARDI, J. M.: Long-term experience with beryllium desease. AMA. Arch. Indust. Health 19 (1959), 110 - 116.

22. DE NARDI, J. M., VAN ORDSTRAND, H.S., CARMODY, M. G.: Acute dermatitis and pneumonitis in beryllium workers: review of 406 cases in 8-year period with follow-up on recoveries. Ohio State M. J. 45 (1949), 567 - 575.

23. DEODHAR, S. D., BARNA, B., VAN ORDSTRAND, H. S.: A study of immunologic aspects of chronic berylliosis. Chest 63 (1973), 309 - 313.

24. DU BOIS, K. P., COCHRAN, K. W., MAZUR, M.: Inhibition of phosphatases by beryllium and antagonism of the inhibition by manganese. Science 110 (1949), 420 - 422.

25. DUTRA, F. R., CHOLAK, J., HUBBARD, D. M.: The value of beryllium determinations in the diagnosis of berylliosis. Am. J. Clin. Path. 19 (1949), 229.

26. DUTRA, F. R., LARGENT, E. J., ROTH, J. L.: Osteogenic sarcoma after inhalation of beryllium oxide. AMA. Arch. Path. 51 (1951), 473 - 479.

27. EGNER, E., STIEFEL, Th.: Spurenanalytische Untersuchungen zur Frage erhöhter Berylliumgehalte in granulomatösen Lungenpräparaten. Berylliummessungen bei granulomatösen Lungenerkrankungen. Persönliche Mitteilung.

28. EISENBUD, GOLDWATER, HIGGINS, MCMAHON, ROTH, TABERSHAW, VAN ORDSTRAND: Letter of Feb. 10, 1978 to HEW Secretary Califano relative to their concern over the quality and credibility of health research performed by NIOSH and utilized by OSHA for regulatory purposes.

29. ENZYKLOPÄDIE NATURWISSENSCHAFT UND TECHNIK Bd. 5. Verl. Moderne Industrie, München 1981.

30. FEDERAL REGISTER 40 (1975), No. 202, 48814.

31. FINDLAY, W. J., ZDROJEWSKI, A., QUICKERT, N.:Spectrosc. Lett. 7 (1974), 355.

32. FORBES, R. M., COOPER, A. R., MITCHELL, H. H.: On the occurence of beryllium and boron, cobalte and mercury in human tissues. J. biol. Chem. 209 (1954), 857.

33. FREIMAN, D. G., HARDY, H. L.: Beryllium desease. Hum. Path. 1 (1970), 25 - 44.

34. FUNKSCHAU: Glasfasern: Weitsichtige Entwicklungen. Heft 6/1985, 12.

35. GARDNER, L. U., HESLINGTON, H. F.: Osteosarcoma from intravenous beryllium compounds in rabbits. Fed. Proc. 5 (1946), 221.

36. GEE, J. B. L., SMITH, G. J. W., MATTHAY, R. A., ZORN, S. K.: Environmental lung disease: Reticuloendothelial cells. Res. J. Reticuloendothel. Soc. 22/3 (1977), 231 - 242.

37. HANIFIN, J. M., EPSTEIN, W. L., CLINE, M.: In vitro studies of granulomatous hypersensitivity to beryllium. J. invest. Derm. 55 (1970), 284 - 288.

38. HARDY, H. L.: Delayed chemical pneumonitis in workers exposed to beryllium compounds. Amer. Rev. Tuberc. 57 (1948), 547 - 556.

39. HARDY, H. L., TEPPER, L. B.: J. Occup. Med. 1 (1959), 219 - 224.

40. HEIN, H., SCHRADER, W.: Grundlagen für das Arbeiten mit der Graphitrohrküvette HGA 74. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Ing.-Büro Frankfurt.

41. HENDERSON, W. R., FUKUYAMA, K., EPSTEIN, W. L., SPITLER, L. E.: In vitro demonstration of delayed hypersensitivity in patients with berylliosis. J. invest. Derm. 58 (1972), 5 - 8.

42. HENSCHLER, D.: Mitteilung XII d. deutsch. Forschungsgemeinschaft, Komm. z. Prüfg. gesundheitsschädl. Arb.-Stoffe. H. Boldt-Verl., Boppard/Rh. 1976.

43. HOAGLAND, M. B., GRIER, R. S., HOOD, M. B.: Beryllium and growth. I. Beryllium-induced osteogenic sarcomata. Cancer Res. 10 (1950), 629 - 635.

44. HYSLOP, F., PALMES, E. D., ALFORD, W. C., MONACO, A. R., FAIRHALL, L. T.: Toxicity of beryllium. Nat. Health Bull. 181 (1943), 1.

45. IARC Monographs on the evalution of carcinogenic risk of chemicals to man. Vol. 1. Lyon 1972, S. 17.

46. ICRP-23: Report of task group on reference man. Pergamon Press, London 1975.

47. ILO/WHO Committee on occupational health 6th report. ITS Techn. Rept. Series No. 415, WHO 1969.

48. JETT, R.: Immunologie aspects of beryllium disease. Aerospace Med. Res. Labs. AMRL-TR 1971, 70 - 91.

49. JONES WILLIAMS, W.: A histological study of the lungs in 52 cases of chronic beryllium disease. Brit. J. industr. Med. 51 (1958), 84.

50. JONES WILLIAMS, W.: Beryllium disease - pathology and diagnosis. J. Soc. occup. Med. 27 (1977), 93 - 96.

51. JONES WILLIAMS, W., FRY, E., JAMES, E. M. V.: Acta path. microbiol. scand., Sect. A 80 (1972), Suppl. 233, 195.

52. JUNGK, G.: Gefährdung durch Beryllium in Leuchtröhren. Ein Beitrag zum Berylliumschaden. Münch. med. Wschr. 98 (1956), 83.

53. KAHN, H. L.: At. Absorption Newslett. 7 (1968), 40.

54. KAISER, G., GRALLATH, E., TSCHÖPEL, P., TÖLG, G.: Beitrag z. Optimierung d. chelat-gas-chromatographischen Berylliumbestimmung in org. Matrices bei begrenzter Einwaage. Z. anal. Chem. 259 (1972), 257.

55. KIMMERLE, G.: Beryllium. Handbuch d. exp. Pharmakologie Bd. 21. Springer-Verl. Berlin 1966.

56. KIRCHHOFF, G., Phil. Mag. (4) 20 (1860), 1.

57. KIRCHHOFF, G., Pogg. Annalen 109 (1860), 275.

58. KIRCHHOFF, G., BUNSEN, R., Phil. Mag. (4) 20 (1860), 89.

59. KIRCHHOFF, G., BUNSEN, R., Phil. Mag. (4) 22 (1861), 329.

60. KÖHLER, H. W.: Feststoffraketenantriebe I und II. Verl. W. Girardet, Essen 1972.

61. KOIRTYOHANN, S. R.: Background corrections in long path Atomic Absorption Spectrometrie. Anal. Chem. 37 No.4 (1965), 601.

62. KOTZ, L., KAISER, G., TSCHÖPEL, P., TÖLG, G.: Aufschluß biol. Matrices für die Bestimmung sehr niedriger Spurenelementgehalte b. begrenzter Einwaage mit Salpetersäure unter Druck in einem Teflongefäß. Z. anal. Chem. 260 (1972), 207.

63. KRAMPITZ, G.: Beryllium. Bild der Wissenschaft 17 (1980), Heft 11, 154 - 161.

64. KRIVANEK, N. D., REEVES, A. L.: Effects of chemical forms of Be on the production of immunological response. Amer. industr. Hyg. Ass. J. 33 (1972), 45.

65. KÜHN, H.: Chronische Berylliose der Lunge. Pathologe 4 (1983), 155 - 162.

66. LIEBEN, J., DATTOLI, J. A., VOUGHT, V. M.: Quantitative beryllium studies in postmortem lungs. Arch. environm. Hlth 7 (1963), 183 - 187.

67. LINK, T.: Beitrag zur Berylliose des Menschen. Med. Diss., Erlangen-Nürnberg 1983.

68. LUKE, M. Z., HAMILTON, L., HOLLOCHER, T. C., Biochem. biophys. Res. Commun. 62 (1975), 497 - 501.

69. MANCUSO, T. F., EL-ATTAR, A.: Epidemiological study of the beryllium-industry. J. occup. Med. 11 (1969), 422 - 434.

70. MANCUSO, T. F.: Relation of duration of employment and prior respiratory illness to respiratory cancer among beryllium workers. Environ. Res. 3 (1970), 251 - 275.

71. MARX, J. J., BURRELL, R.: Delayed hypersensitivity to beryllium compounds. J. Immunol. 111 (1973), 590 - 598.

72. MASSMANN, H.: Vergleich von Atomabsorption und Atomfluoreszenz in der Graphitküvette. Spectrochim. Acta 23 B (1968), 215 - 226.

73. MAK - Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. Dt. Forschungsgemeinschaft/Kommission z. Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 20. Verl. Chemie, Weinheim 1984.

74. METZNER, F. M., LIEBEN, J.: Respiratory disease associated with beryllium refining and alloy fabrication. Proc. intern. Congr. occup. Health, 13th, New York 1960, 316.

75. MINKWITZ, R., FRÖHLICH, N., LEHMANN, E.: Untersuchungen von Schadstoffbelastungen an Arbeitsplätzen mit Beryllium- und Cobaltexposition. Bundesanstalt f. Arbeitsschutz, Dortmund 1983, Forschungsbericht Nr. 367.

76. MÖNCH, S., Metall 23 (1969), 238.

77. NEIDHART, B., LIPPMANN, Ch.: Fehlerquellen bei der direkten Bestimmung toxischer Metalle in Urinproben mit der flammenlosen Atomabsorptionsspektroskopie. Ber. üb. d. 21. Jahrestagung d. Deutsch. Gesell. f. Arbeitsmedizin in Berlin. Gentner Verl., Stuttgart 1981, 531.

78. NISHIMURA, M.: Clinical and experimental studies on acute beryllium disease. Nagoya J. Med. Sci. 29 (1966), 17 - 44.

79. OCCUPATIONAL Exposure to Beryllium. National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, Maryland, NTIS Springfield 1972.

80. PARKER, C. W.: Clinical immunology Vol. 2. W. B. Saunders & Co, Philadelphia-London-Toronto 1980, 1367.

81. PETZOW, G., ALDINGER, F.: Beryllium. Ullmanns Enzyklopädie d. tech. Chemie, Bd. 8. Verl. Chemie, Weinheim 1974.

82. PETZOW, G., ZORN, H.: Zur Toxikologie berylliumhaltiger Stoffe. Chemiker-Zeitung 98 (1974), 236.

83. POWELL, Ch. H., PREUSS, O.: Criteria for a recommended standard, occupational exposure to beryllium. US Department of health, USA 1972.

84. PREUSS, O.: Zur Epidemiologie der Berylliumerkrankungen. Ber. ü. d. 18. Jahrestagung d. Dt. Ges. f. Arbeitsmed. in Frankfurt. Gentner Verl., Stuttgart 1978, 179.

85. PREUSS, O.: Beitrag zum Stand der Ermittlungen über die cancerogene Wirkung von Beryllium. Ber. ü. d. 19. Jahrestagung d. Dt. Ges. f. Arbeitsmed. in Münster. Gentner Verl., Stuttgart 1979, 163.

86. PREUSS, O., OSTER, H.: Zur Gesundheitsgefährdung durch Beryllium aus heutiger Sicht. Arbeitsmed., Sozialmed., Präventivmed. 15 (1980), 270 - 275.

87. PRICE, C. D., WILLIAMS, W. J., PUGH, A., JOYNSON, D. H.: Role of in vitro and in vivo tests of hypersensitivity in Be-workers. J. clin. Path. 30 (1) (1977), 24 - 28.

88. RADFORD, E. P., TEPPER, L. B.: Summary of Beryllium Symposium. National Center for Urban and Industrial Health, Cincinnati 1967.

89. REEVES, A. L.: The absorption of beryllium from the gastrointestinal tract. Arch. environm. Hlth 11 (1965), 209 - 214.

90. REEVES, A. L., DEITCH, D., VORWALD, A. J.: Beryllium carcinogenesis. I. Inhalation exposure of rats to beryllium sulfate aerosols. Cancer Res. 27 (1967), 439 - 445.

91. REEVES, A. L.: Über die Retention von eingeatmetem Berylliumsulfat-Aerosol in Rattenlungen. Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 24 (1968), 226.

92. REEVES, A. L.: Umweltgefährdung durch Beryllium. Zbl. Arbeitsmed. 2 (1974), 46 - 56.

93. REEVES, A. L.: Beryllium in the environment. Clin. Toxicol. 10 (1977), 37 - 48.

94. REEVES, A. L.: Beryllium. In: Friberg, L., Nordberg, G. F., Vouk, V. B. (Hrgb.): Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam-New York-Oxford 1979, 329 - 343.

95. RUNNELS, J. H., MERRYFIELD, R., FISCHER, H. B., Anal. Chem. 47 (1975), 1258.

96. SAX, N. I.: Cancer causing chemicals. Van Nostrand Reinhold Company, New York 1981, 324.

97. SCHEPERS, G. W. H.: Biological action of beryllium. Reaction of the monkey to inhaled aerosols. J. industr. med. Surg. 33 (1964), 1 - 16.

98. SCHEPERS, G. W. H., DURKANT, T. M., DELAHANT, A. B., CREEDON, F. T.: The biological action of inhaled beryllium sulfate. A preliminary chronic toxicity study of rats. Arch. industr. Hlth 15 (1957), 32 - 58.

99. SIGHINOLFI, G. P., At. Absorp. Newslett. 11 (1972), No. 5.

100. SNEDDON, I. B.: Berylliosis. Proc. Roy. Soc. Med. 48 (1955), 175 - 177.

101. SPENCER, H. C., HOOK, R. H., BLUMENSHINE, J. A. , McCOLLISTER, S. B., SADEK, S. B., JONES, J. C.: Toxicological studies on beryllium oxides and beryllium-containing exhausts. AMRL-TR-68-148. Aerospace Med. Res. Labs., Wright-Patterson AFB, 1968.

102. SPRINCE, N. L., KAZEMI, H., HARDY, H. L.: Current problems of differentiating between beryllium disease and sarcoidosis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 278 (1976), 654 - 664.

103. STERNER, J. H., EISENBUD, M.: Epidemiology of beryllium intoxication. A. M. A. Arch. industr. Hyg. 4 (1951),123 - 151.

104. STIEFEL, Th., SCHULZE, K., TÖLG, G., ZORN, H.: Ein Verbundverfahren zur Bestimmung von Beryllium in biologischen Matrices durch flammenlose Atomabsorptionsspektrometrie. Anal. Chim. Acta 87 (1976), 67 - 78.

105. STIEFEL, Th., SCHULZE, K., ZORN, H., TÖLG, G.: Toxicokinetic and toxicodynamic studies of beryllium. Arch. Toxicol. 45 (1980), 81 - 92.

106. STIEFEL, Th.: Spurenanalytische Untersuchungen zur Verteilung von inkorporiertem Beryllium in Vollblut und Serumproteinen. Naturwiss. Diss.,Stuttgart 1978.

107. STOECKLE, J. D., HARDY, H. L., WEBER, A. L.: Chronic beryllium disease. Long term follow up of 60 cases and selective review of literature. Amer. J. Med. 46 (1969), 545 - 561.

108. STOEPPLER, M., MÜLLER, K. P., BACKHAUS, F.: Pretreatment studies with biological and environmental materials. III. Pressure evaluation and carbon balance in pressurized decomposition with nitric acid. Fresenius'Z. Anal. Chem. 297 (1979), 107.

109. STRASSMANN, I.: Berylliumhaltige Kupfer- und Nickelbasis-Legierungen. Gießerei 68 (1981), 188.

110. SUSSMAN, V. H., LIEBEN, J., CLELAND, J. G.: An air pollution studie of a community surrounding a beryllium plant. Amer. industr. Hyg. Ass. J. 20 (1959), 504.

111. TEPPER, L. B., HARDY, H. L., CHAMBERLIN, R. I.: Toxicity of beryllium compounds. Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1961.

112. TEPPER, L. B.: Beryllium. CRC Critical Reviews in Toxicology. 1972, 235 - 259.

113. TLV - Threshold limit values for chemical substances in workroom air adopted by ACGIH for 1982. Executive Secretary, P.O. Box 1937, Cincinnati, Ohio.

114. TORIBARA, T. Y., SHERMAN, R. E.: Analytical chemistry of micro quantities of beryllium. Anal. Chem. 25 (1953), 1594.

115. TRgA 102 - Begründungen zu den TRK-Werten. 2. TRK-Wert für Beryllium. Bundesarbeitsblatt Heft 9/1982, 95.

116. TRgA 127 - Auslöseschwelle für Beryllium und seine Verbindungen. Bundesarbeitsblatt Heft 4/1986, 63 - 65.

117. TRUHAUT, R., FESTY, B., LETALAER, J. Y., Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. 266 (1968), 1192.

118. TSCHÖPEL, P., KOTZ, L., SCHULZ, W., VEBER, M., TÖLG, G.: Zur Ursache u. Vermeidung systematischer Fehler b. Elementbestimmungen in wäßrigen Lösungen im ng/ml- und pg/ml-Bereich. Z. Anal. Chem. 302 (1980), 1 - 14.

119. VACHER, J., DERAEDT, R., BENZONI, J.: Compared effects of two beryllium salts (soluble and insoluble): toxicity and blockade of the reticuloendothelial system. Toxicol. Appl. Pharmacol. 24 (1973), 497 - 506.

120. VANOETEREN, C., CORNELIS, R., VERSIECK, J., HOSTE, J., DE ROOSE: Trace element patterns in human lung tissues. J. Radioanal. Chem. 70 (1982), 219 - 238.

121. VAN ORDSTRAND, H. S., HUGHES, R., CARMODY, M. G.: Chemical pneumonia in workers extracting beryllium oxide. Cleveland Clin. Quart. 10 (1943), 10 - 18.

122. VASIL'EVA, E. V.: Immunological assessment of experimental berylliosis. Biull. eksp. Biol. Med. 67 (1969), 74 - 77.

123. VASIL'EVA, E. V., Vop. Med. Chim. 17 (1971), 361.

124. VASIL'EVA, E. V., Biull. eksp. Biol. Med. 73 (1972), 76.

125. VORWALD, A. J., REEVES, A. L., URBAN, E. C. J., in: Stokinger, H. E. (Hrgb.): Beryllium, its industrial hygiene aspects. Acad. Press, New York-London 1966, 201.

126. WALSH, A., Spectrochim. Acta 7 (1955), 108.

127. WELZ, B.: Grundlagen und Leistungsfähigkeit der Atom-Absorptions-Spektroskopie. CZ-Chemie-Technik 1 (1972), 373 - 380.

128. WELZ, B.: Atom-Absorptions-Spektroskopie. Verlag Chemie, Weinheim 1972.

129. WELZ, B.: Einsatz der Atom-Absorptions-Spektroskopie in der industriellen Analytik. Z. f. Werkstofftechnik 4 (1973), 285 - 292.

130. WELZ, B., WIEDEKING, E.: Bestimmung von Spurenelementen in Serum und Urin mit flammenloser Atomisierung. Z. Anal. Chem. 252 (1970), 111 - 117.

131. WILLIAMS, D., JONES WILLIAMS, W., WILLIAMS, J. E.: Enzyme histochemistry of epitheloid cells in sarcoidosis and sarcoid like granulomas. J. Path. 97 (1969), 705.

132. WILLIAMS, W. J., GREY, J., PIOLI, E.: Diagnosis of chronic beryllium disease. Brit. med. J. 2 (1972), 175.

133. WILLIAMS, W. J., KILPATRICK, G. S.: Cutaneous and pulmonary manifestations of chronic beryllium disease. In: Iwai, K., Hosoda, Y. (Hrgb.): Proc. 6th Internat. Conf. on Sarcoidosis. University Press, Tokyo 1974, 141 - 145.

134. WILLIS, J. B., Nature 207 (1965), 715.

135. WITSCHI, H. P.: Effects of beryllium on deoxyribonucleic acid-synthesizing enzymes in regenerating rat liver. Biochem. J. 120 (1970), 623 - 634.

136. WRIGHT-PATTERSON AFB: Report of work done under contract F 33615-68C-1492.Ohio 1970.

137. WURM, K., REINDELL, H., HEILMEYER, L.: Der Lungenboeck im Röntgenbild. Thieme, Stuttgart 1958.

138. WURM, K.(Hrgb.): Sarkoidose. Thieme, Stuttgart-New York 1983, 75 - 105, 228 - 230.

139. ZELLER, J.: Der Lymphozyten-Transformationstest als "screening"-Untersuchung zur Feststellung einer spezifischen Sensibilisierung durch Berylliumsulfat. Med. Diss. Tübingen 1976.

140. ZMBOVA, B., MARINKOVIĆ, M., Talanta 20 (1973), 647.

141. ZORN, H.: Beryllium-Symposium Max-Planck-Ges. Stuttgart 1974.

142. ZORN, H.: Beryllium-Standardadditionsverfahren. In: Senatskom. z. Prüfg. gesundheitsschädl. Arbeitsstoffe d. dt. Forschungsgemeinsch. Arbeitsgr. "Analyt. Chemie": Analytische Methoden Bd. 2. Verlag Chemie, Weinheim 1981.

143. ZORN, H.: Beryllium-Verbundverfahren.
In: Senatskom. z. Prüfg. gesundheitsschädl. Arbeitsstoffe d. dt. Forschungsgemeinsch. Arbeitsgr. "Analyt. Chemie": Analytische Methoden Bd. 2. Verl. Chemie, Weinheim 1981.

144. ZORN, H., DIEM, H.: Die Bedeutung des Berylliums und seiner Verbindungen für den Arbeitsmediziner. Zbl. Arbeitsmed. 24 (1974), 3 - 8.

145. ZORN, H., STIEFEL, Th., DIEM, H.: Die Bedeutung des Berylliums und seiner Verbindungen für den Arbeitsmediziner - 2. Mitteilung. Zbl. Arbeitsmed. 27 (1977), 83 - 88.

Lebenslauf

Am 14. Februar 1952 wurde ich, Hans-Peter Martin Daxer, als Sohn des Friedrich Wilhelm Daxer und der Margarete Daxer, geb. Jahraus, in Freudenstadt geboren.

1971	Abitur am Hohenstaufen-Gymnasium (math.-naturw. Zug) in Göppingen.
1973–74	Zivildienst bei der Gustav Werner Stiftung zum Bruderhaus in Reutlingen. Ausbildung zum Krankenpflegehelfer am Heinrich-Landerer-Krankenhaus in Reutlingen.
1974–76	Tätigkeit als Krankenpflegehelfer an der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik in Tübingen und im Behindertenheim des Landeswohlfahrtsverbandes Württemberg-Hohenzollern in Reutlingen-Rappertshofen.
1976–83	Medizinstudium an den Universitäten Ulm, Tübingen und Freiburg. Praktisches Jahr am Diakonissen-Krankenhaus in Karlsruhe-Rüppurr.
18.10.83	Ärztliche Prüfung in Karlsruhe.
22.11.83	Approbation als Arzt.
1984–85	Weiterbildungsassistent in Arbeitsmedizin bei Prof. Dr. Zorn im betriebsärztlichen Zentrum der Technischen Werke der Stadt Stuttgart.